

**Univerzita Karlova v Praze**

**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory (B3912)

Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů (BMOBIBO)



Jakub Slepíčka

**Význam TLR-4 receptorů pro modulaci nociceptivní signalizace**  
**The role of TLR-4 receptors for modulation of nociceptive signalling**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Školitel: MUDr. Jiří Paleček, CSc.

Praha 2016

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem tuto práci vytvořil samostatně a za použití níže uvedené literatury a informačních zdrojů. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne 9. 5. 2016

Jakub Slepíčka

## **Poděkování**

Tímto děkuji svému školiteli, MUDr. Jiřímu Palečkovi, CSc. za vedení mé bakalářské práce, za vstřícnost, rady a důležité poznatky, kterých si vážím a které byly pro vypracování mé práce důležité.

## Seznam použitých zkratk

---

|                |  |                   |  |
|----------------|--|-------------------|--|
| <b>AP-1</b>    | adaptor protein-1                          | <b>MRGPRD</b>     | MAS-related G-protein coupled receptor member D                |
| <b>CCI</b>     | chronic constriction injury model          | <b>MyD88</b>      | myeloid-differentiation factor 88                              |
| <b>Ccl5</b>    | chemokine ligand 5                         | <b>NFκB</b>       | nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells |
| <b>CD14</b>    | cluster differentiation antigen 14         | <b>N/OFQ</b>      | nociceptin/orphanin FQ   |
| <b>CIPN</b>    | chemotherapy-induced peripheral neuropathy | <b>NPCs</b>       | neuronal progenitor cells                                      |
| <b>CNS</b>     | central nervous system                     | <b>PAMP</b>       | pathogen-associated molecular pattern                          |
| <b>DAMP</b>    | danger-associated molecular pattern        | <b>PGE2</b>       | prostaglandin E2   |
| <b>DC</b>      | dendritic cell                             | <b>Poly (I:C)</b> | polyinosine-polycytidylic acid                                 |
| <b>DG</b>      | dentate gyrus                              | <b>PRR</b>        | pattern recognition receptor                                   |
| <b>DH</b>      | dorsal (spinal) horn                       | <b>RT-PCR</b>     | reverse transcriptase-polymerase chain reaction                |
| <b>DRG</b>     | dorsal root ganglion                       | <b>SCI</b>        | spinal cord injury model                                       |
| <b>ERK</b>     | extracellular regulated kinase             | <b>SCT</b>        | spinal cord transection model                                  |
| <b>GPCR</b>    | G-protein coupled receptor                 | <b>SFA</b>        | saturated fatty acid   |
| <b>HMGB1</b>   | High mobility group box 1                  | <b>SGZ</b>        | subgranular zone   |
| <b>IKK</b>     | inhibitor of NFκB kinase                   | <b>TBK1</b>       | TRIF binding kinase 1  |
| <b>IL</b>      | interleukin (1, 2, 6, 10 etc.)             | <b>TIR</b>        | Toll/interleukin-1 receptor homology (TIR) domain              |
| <b>IL-1Ra</b>  | interleukin-1 receptor antagonist          | <b>TIRAP</b>      | TIR adaptor protein  |
| <b>IRAK</b>    | IL-1 receptor associated kinase            | <b>TLR</b>        | Toll-like receptor   |
| <b>IRF</b>     | interferon regulatory factor               | <b>TNF</b>        | tumor necrosis factor  |
| <b>IFN</b>     | interferon                                 | <b>TRAF6</b>      | TNF receptor-associated factor 6                               |
| <b>JNK</b>     | c-Jun N-terminal kinase                    | <b>TRAM</b>       | TRIF-related adaptor molecule                                  |
| <b>LBP</b>     | lipopolysaccharide binding protein         | <b>TRIF</b>       | TIR-domain-containing adapter-inducing interferon β            |
| <b>LPS</b>     | lipopolysaccharide                         | <b>TRPV1</b>      | transient receptor potential vanilloid 1                       |
| <b>LPS-RS</b>  | LPS of Rhodobacter sphaeroides             | <b>WDR</b>        | wide dynamic range neuron                                      |
| <b>MAL</b>     | MyD88 adaptor like proteins                |                   |  |
| <b>MAPK</b>    | mitogen-activated protein kinase           |                   |  |
| <b>MD-1/-2</b> | myeloid-differentiation protein 1 / 2      |                   |  |

# Obsah

|      |   |    |
|------|---|----|
| 1.   | Úvod .....  | 1  |
| 2.   | Anatomické předpoklady nociceptivní signalizace .....               | 3  |
| 2.1. | Vznik nociceptivních signálů a jejich šíření periferním nervem..... | 3  |
| 2.2. | Úloha neuronů spinálních ganglií v nocicepci .....                  | 3  |
| 2.3. | Modulace nociceptivního signálu v zadním rohu míšním.....           | 5  |
| 2.4. | Přenos nociceptivního signálu z míchy do vyšších center .....       | 5  |
| 2.5. | Základní dělení bolestivých stavů .....                             | 6  |
| 3.   | Toll-like receptory (TLR).....                                      | 8  |
| 3.1. | Obecné vlastnosti .....   | 8  |
| 3.2. | Struktura TLR.....  | 8  |
| 3.3. | Exprese TLR v buněčných typech.....                                 | 9  |
| 3.4. | Výskyt TLR v buňce .....  | 9  |
| 3.5. | TLR rozdělení podle PAMP .....                                      | 9  |
| 3.6. | Mechanismy nitrobuněčné signalizace spouštěné TLR .....             | 10 |
| 3.7. | TLR v nervové soustavě.....   | 11 |
| 4.   | Toll-like receptor 4 (TLR-4).....                                   | 12 |
| 4.1. | Obecné vlastnosti TLR-4.....  | 12 |
| 4.2. | Molekuly interagující s TLR-4 receptory.....                        | 12 |
| 4.3. | Intracelulární kaskády spouštěné TLR-4.....                         | 13 |
| 4.4. | Endogenní ligandy TLR-4.....  | 15 |
| 4.5. | Exogenní ligandy TLR-4.....   | 16 |
| 5.   | Exprese TLR-4 receptorů v imunokompetentních buňkách.....           | 19 |
| 5.1. | Funkce TLR-4 receptorů v imunitních reakcích .....                  | 19 |
| 6.   | Exprese TLR-4 receptorů v nervové soustavě.....                     | 20 |
| 6.1. | Funkce TLR-4 v modulaci nociceptivní signalizace .....              | 21 |
| 6.2. | TLR-4 při patologických stavech v nervové soustavě .....            | 23 |
| 6.3. | Úloha TLR-4 receptorů při stavech neuropatické bolesti .....        | 23 |
| 7.   | Závěr.....  | 26 |
| 8.   | Seznam použité literatury .....                                     | 27 |

# 1. Úvod

---

Bolest nás provází celým životem a pomáhá nám minimalizovat škody, které v našem těle mohou vznikat. Tento fyziologický fenomén napomáhající udržení celistvosti organismu je zprostředkován zpracováním nociceptivní informace na kortikální úrovni centrální nervové soustavy. Je tak nutné ho odlišovat od jiných reflexních reakcí, které zabezpečují zachování integrity organismu před poškozením u nižších živočichů.

Bolest je dnes definována Mezinárodní asociací pro výzkum bolesti (International Association for the Study of Pain, IASP) jako „*nepříjemný senzorický a emocionální zážitek spojený se skutečným či potenciálním poškozením tkáně, nebo popsáný na základě takového poškození*“ (IASP 2012). Z této definice vyplývá, že bolest je subjektivní vjem a v současné době nemáme objektivní prostředky pro změření intenzity bolesti. Oproti tomu nocicepce představuje soubor fyziologických a patofyziologických procesů a pochodů, které následně vedou ke vjemu bolesti. Tento soubor dějů popisujících přenos fyziologické bolesti je definován také jako „*neurální proces kódování škodlivých stimulů*“ (IASP 2012). Takové poškozující stimuly přichází jak z vnitřního tak i z vnějšího prostředí. U externích podnětů se jedná například o změny teploty, působení mechanických sil a dráždivých chemikálií. Vnitřní podněty jsou vyvolány zejména patologickým stavem, jako je například ischemie, krvácení, blokáda průchodnosti dutým orgánem, zánět nebo nádorové onemocnění.

Nocicepce z podstaty své definice předchází bolesti, ale nemusí nutně vést až k jejímu vjemu. Konkrétní škodlivý stimul je v průběhu celé své cesty od nervového zakončení v kůži nebo vnitřních orgánech až do specializovaných struktur centrální nervové soustavy vystaven řadě modulačních vlivů neuromodulátorů a neurotransmiterů, které mohou význam signálu rozšířit, zúžit nebo i potlačit.

Bolest je jako signální mechanismus organismu prospěšná jen v omezené míře, a pokud se neléčí její původ, může dojít i k trvalé změně a zafixování bolestivého stavu. Chronická bolest pak je charakterizována dlouhodobým působením, trvajícím bez přestávky více než několik týdnů. V případě, že dojde k přímému poškození nebo ke změně funkčnosti části periferní nebo centrální nervové dráhy, vzniká patologický stav, neuropatie, která je často doprovázena chronickou neuropatickou bolestí. Neuropatické bolestivé stavy nereagují na léčbu prostředky proti akutní bolesti, protože ty jsou zacíleny na normálně fungující nervovou soustavu a nepůsobí na pozměněné signalizační mechanismy způsobené vznikem neuropatie. Z toho důvodu je třeba podrobně zkoumat vznik stavů chronické neuropatické bolesti a objevovat nové účinné látky zacílené na mechanismy jejího působení.

V této práci uvedu základní představu o nociceptivní signalizaci a přiblížím vlastnosti rodiny Toll-like receptorů, známé především pro svou imunitní funkci. Zaměřím se na Toll-like receptor 4, který má, a to nejen podle recentního článku mého školitele, pana doktora Palečka, vedoucího oddělení Funkční morfologie Fyziologického ústavu AV ČR, také význam pro modulaci nocicepce a pro přechod od akutní ke chronické bolesti.

## 2. Anatomické předpoklady nociceptivní signalizace

---

K prvním badatelům popisujícím způsob šíření bolestivé informace patřil C. S. Sherrington, který v roce 1903 charakterizoval na psím modelu specifická kožní nervová zakončení aktivovaná vysokou teplotou. Nazval je „nocicipientní“, volně přeloženo jako „přijímající poškození“ (z latinského „nocere“ ~ škodit); (Sherrington 1903). O tři roky později pojmenoval schopnost určitých poškozujících vlivů spouštět autonomní odpovědi, bolest a reflexní svalové stahy jako nociceptivní reakci (Sherrington 1906). Dnes víme, že nociceptory – periferní nervová zakončení, reagující na vysokoprahové termální podněty, exprimují vaniloidní receptory (TRPV) a konkrétně iontové kanály TRPV2, které mají práh až kolem 52°C (Leffler et al. 2007).

### 2.1. Vznik nociceptivních signálů a jejich šíření periferním nervem

Prvotní stimul se vytváří na volných nervových zakončeních v závislosti na místě poškození, buď v kůži, hlubokých tkáních nebo vnitřních orgánech. Neurony a jejich zakončení s receptory schopnými reagovat na škodlivé či potenciálně škodlivé podněty se nazývají **nociceptory**. Konkrétní nadprahová stimulace zde aktivuje iontové kanály zodpovědné za aktivaci neuronu, depolarizaci zakončení a tvorbu akčního potenciálu šířeného periferním nervem do míchy a centrální nervové soustavy.

Nociceptory nejčastěji bývají zakončení nervového vlákna typu C, která jsou nemyelinizovaná a vedou informaci nejpomaleji, u lidí 0,5 až 2 m/s. Primární aferentní vlákna (PAF) typu A $\delta$  jsou slabě myelinizovaná a akční potenciál mohou vést maximálně rychlostí 30 m/s. Většinou je ale vedou rychlostmi do 10 m/s (WILLIS 1988; Millan 1999). V případě vytvoření patologických stavů pak ke vzniku bolesti může vést i signalizace přicházející z myelinizovaných A $\beta$  nervových vláken, dosahující rychlosti až 120 m/s. Jedním z hlavních neurotransmiterů zajišťujících přenos signálu na míšní úrovni je glutamát, aktivující glutamátové receptory (NMDA, AMPA). Aktivace postsynaptických receptorů je výrazně ovlivněna také řadou neuromodulátorů, jako je například peptid substance P (Carlton et al. 1998; Dubin a Patapoutian 2010).

### 2.2. Úloha neuronů spinálních ganglií v nocicepci

Těla primárních somatosenzorických neuronů jsou uložena vně páteřní míchy v dorzálních míšních gangliích (DRG), inervují-li kůži a vnitřních orgány, anebo se nachází v trigeminálním gangliu, pokud inervují hlavu a obličej. Těla těchto neuronů jsou různé velikosti odpovídající úrovni myelinizace a průměru jejich periferních a centrálních

výběžků. Nemyelinizované nociceptivní neurony s vlákny typu C patří k těm menším (Lawson 2002). Tyto neurony mají specifickou tzv. pseudounipolární strukturu, která umožňuje přímé šíření signálu z periferního na centrální axonální výběžek a následné řízené vylití neurotransmiterů na primárním aferentním zakončení, předávajícím signál na míšní úrovni.

Těla neuronů v DRG postrádají synaptická spojení. Přesto mají velká endoplazmatická retikula, v nichž vytváří řadu proteinů, zejména membránových kanálů, které podle své distribuce v obou výběžcích ovlivňují citlivost samotného neuronu k okolním podnětům a modulaci synaptického přenosu na míšní úrovni (Amir a Devor 2003; Carr et al. 2010). Jedním z hlavních typů neuronálních receptorů, syntetizovaných v endoplasmatickém retikulu, jsou ionotropní receptory a pak zejména řada receptorů reagujících na vnější podněty.

PAF přenášející informaci o škodlivých podnětech mají svá centrální zakončení rozvětvená do několika segmentů zadního rohu míšního (DH). Různé typy periferních aferentních vláken jsou zakončeny v různých oblastech šedé hmoty míšní, funkčně stratifikovaných v tzv. Rexedovy laminy, rozlišitelné na řezu v dorzoventrální rovině (Rexed 1952). Nociceptivní C vlákna inervují především I., vnější II., v VI. a X. laminu. Aδ vlákna se přepojují v I., vnější II., ve IV. a v V. lamině na polymodální sekundární neurony (WDR). Ve výjimečných případech byla u Aδ vláken zaznamenána zakončení v X. lamině (Millan 1999; WILLIS 1988).

Typ nociceptivní informace může být rozdílný už na úrovni jednotlivých PAF vzhledem k jejich různé senzitivě ke konkrétním typům podnětů (extrémní teploty, tlak, chemikálie či pH), k produkci rozdílně aktivovaných receptorových komplexů i jejich zakončení v různých Rexedových laminách. Základní skupinou PAF podílejících se na přenosu a modulaci nociceptivních podnětů jsou ty, které po aktivaci na centrálním zakončení vylučují glutamát. Kupříkladu podskupina glutamátergických PAF produkujících G-protein vázaný receptor MRGPRD (*MAS-related G-protein coupled receptor member D*) projikuje do vnitřní vrstvy II. laminy a zajišťuje citlivost k poškozujícím mechanickým vlivům, ale ne k extrémním teplotám. Nociceptivní vlákna s TRPV1 receptory, reagujícími na periferních zakončeních na tepelné podněty, inervují laminu I a vnější vrstvu laminy II (Cavanaugh et al. 2009).



## 2.3. Modulace nociceptivního signálu v zadním rohu míšním

Důležité procesy ovlivňující význam příchozího signálu probíhají už na úrovni zadního rohu míšního (DH). Zde senzorická vlákna vytvářejí synapse se sekundárními neurony a mohou být také ovlivňována interneurony nebo centrálně regulována ze supraspinálních oblastí. Modulace interneurony může být excitační, především prostřednictvím výlevů glutamátu či aspartátu, nebo inhibiční, například působením glycinu či gama-aminomáselné kyseliny (GABA). Interneurony mohou působit buď presynapticky, kdy omezí nebo zvýší výlev neurotransmiterů z PAF, čímž ovlivní pouze intenzitu příchozího typu signálu, anebo postsynapticky, kdy tvoří synapsi se sekundárními neurony a mohou pak ovlivnit širší spektrum signalizačních dějů. Vyšší supraspinální centra prostřednictvím výlevu acetylcholinu, dopaminu, noradrenalinu či serotoninu ovlivňují prioritu nociceptivního impulzu vzhledem k ostatním typům signálu (McHugh a McHugh 2000). Nocicepci inhibuje například signalizace z oblasti středního mozku okolo Sylviova kanálku, periaqueduktální šedi (PAG). Z oblasti koncové míchy, rostroventrální meduly (RVM), může být nocicepce facilitována prostřednictvím tzv. „on-cells“, ale i inhibována prostřednictvím „off-cells“ (Ossipov et al. 2014).

Neurony jsou v DH vystaveny i působení řady dalších neurotransmiterů a modulátorů, jako je substance P, neurokinin A, neurotrofiny (např. gliální (GDNF) a neuronální (NGF) růstové faktory), adenosintrifosfát (ATP), oxid dusnatý (NO), bradykinin či cholecystokinin (Basbaum et al. 2009; Heinricher et al. 2009; McHugh a McHugh 2000).

## 2.4. Přenos nociceptivního signálu z míchy do vyšších center

Po integraci řady dějů na úrovni DH pokračuje šíření informace vzestupnými drahami do vyšších mozkových center. Jednou z hlavních cest, kterou se nociceptivní informace šíří, je **spinothalamický** trakt (STT) vedoucí z míchy do oblasti thalamu. STT je hlavní a fylogeneticky nejmladší z drah anterolaterálního systému pro přenos informací z míchy do vyšších center CNS.

Aferentní vlákna sekundárních neuronů této dráhy nejdříve prochází kolem centrálního kanálku na opačnou stranu míchy, do ventrolaterální oblasti, stále na úrovni stejného míšního segmentu do kterého vstoupila odpovídající PAF. Poté výběžky putují až do thalamických jader. Odtud terciární neuron přenáší informaci do prefrontální či somatosenzorické mozkové kůry, kde vzniká vědomý pocit bolesti (McHugh a McHugh 2000).

Druhou drahou je **spinoretikulární** trakt projektující do intralaminárních jader, tedy střední linie retikulární formace. Stejně jako STT přechází v míšním segmentu na anterolaterální část druhé poloviny míchy. Odtud ascenduje do retikula, z něhož se přepojuje do thalamu k dalším integracím signálu (Basbaum et al. 2009).

Třetí dráha, která společně s předcházejícími patří do anterolaterálního systému, se nazývá **spinomezencefalická** a odděluje se od spinoretikulárního traktu v retikulární formaci, odkud pokračuje do oblasti *substantia grisea centralis* (centrální šedé zóny); (Millan 1999).

Existují i další dráhy, které vedou nociceptivní signál do podkorových oblastí. Vjem bolesti je výsledkem komplexní integrace skupiny mozkových korových center a oblastí limbického systému i bazálních ganglií (Julius a Basbaum 2001).

## 2.5. Základní dělení bolestivých stavů

Bolest je možné dělit na základě řady různých kritérií. Často používané dělení bolesti vychází z doby jejího trvání. Dle tohoto kritéria můžeme rozlišovat bolest akutní, subchronickou a chronickou.

**Akutní bolest** je rychlá reakce na škodlivý podnět v řádu sekund, která ochraňuje organismus před poškozením a je proporcionální vzhledem k síle podnětu.

**Subchronická bolest** je odpovědí na fyzické poškození tkání, která vymizí po zahojení a trvá v řádu hodin až dní.

**Chronická bolest** vzniká na základě dlouhodobých změn v organismu způsobených někdy nedostatečnou léčbou akutní bolesti, nicméně chronická bolest může vznikat z širokého spektra příčin včetně chirurgického zákroku, nemoci či zranění. Často neznáme přesnou příčinu vzniku anebo ji neumíme léčit (Millan 1999).

Chronická bolest bývá doprovázena senzitivizací nociceptivních zakončení a vznikem **hyperalgesie**, která se projevuje zvýšenou citlivostí a výraznými behaviorálními reakcemi na jinak slabé bolestivé podněty. Podobným doprovodným jevem je **allodynie**, projevující se bolestivými reakcemi na původně nebolestivé podněty, jako jsou pohlazení, dotyk, mírné teplo. Podle typu použitého podnětu rozlišujeme allodynii taktilní, termální apod (IASP 2012).

Poškozením samotné nervové soustavy, nebo nefyziologickou změnou původní funkce některého jejího prvku, vzniká patologický stav zvaný **neuropatie**. Týká-li se poškození pouze jediného nervu, nazývá se *mononeuropatií*, pokud je poškozených nervových drah

více, jde o běžnější *polyneuropatii*. V případě, že tato porucha vznikla v míše či mozku, nazývá se *centrální neuropatii*, jinak se řadí k převažujícím *periferním neuropatiím*.

Neuropatický stav bývá doprovázen allodynii a hyperalgesií. Tyto stavy zvýšené citlivosti mají periferní i centrální mechanismy vzniku, přičemž senzitivace míšních neuronů a aktivace gliových buněk patří k hlavním mechanismům jejich vzniku při různých patologických stavech (Qi et al. 2011a).

### 3. Toll-like receptory (TLR)

---

#### 3.1. Obecné vlastnosti

Toll-like receptory jsou proteiny patřící do skupiny schopné rozeznávat specifické molekulární vzory, tzv. pattern-recognition receptors (PRR). TLR rozeznávají molekulární vzory charakteristické pro různé druhy patogenů, dohromady nazývané pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) a na základě jejich detekce vyvolávají první kroky vrozené imunitní odpovědi (Janssens a Beyaert 2003). TLR jsou schopny nezávisle na přítomnosti PAMP rozeznávat i endogenní ligandy uvolňované z buněk při buněčném stresu, narušení tkáně, nekróze buněk a dalších patologických změnách v organismu. Tyto ligandy, například mRNA, krátké úseky DNA i RNA, ATP a proteiny rodiny teplotního šoku (HSP), jejichž přítomnost v mezibuněčném prostoru zdravého organismu není obvyklá, nazýváme danger-associated molecular patterns (DAMPs) (Nicotra et al. 2012).

První receptor této rodiny byl objeven až v devadesátých letech 20. století ve hmyzu octomilce a nazývá se *Drosophilla* Toll. Podílí se také na signalizaci při dorzoventrálním pruhování v ontogenezi. Postupně byly objeveny i savčí ekvivalenty Toll receptoru. Dnes známe celkem 13 druhů TLR, z toho u člověka je 10 zástupců (TLR-1 až 10) a u myši 12 (TLR-1 až 9, TLR-11 až 13); (Liu et al. 2012; Nicotra et al. 2012; Okun et al. 2011).

#### 3.2. Struktura TLR

TLR je obecně evolučně konzervovaným transmembránovým proteinem typu I a každá jeho molekula sestává z extracelulární C-terminální domény rozeznávající PAMP, která je bohatá na leucinové repetice, dále z transmembránového úseku a také z cytosolických TIR (*Toll/IL-1 (interleukin-1) receptor homology*) domén, které slouží k aktivaci navazujících sestupných signalizačních drah.

Nezbytnou podmínkou pro funkčnost TLR se zdá být tvorba dimerů buď ve formě homo- či heterodimerů. Většina TLR tvoří na membránách pouze homodimery, tedy komplexy o dvou stejných podjednotkách. TLR-1,2 a 6 mohou navíc tvořit funkční heterodimery TLR-1,6 a TLR-2,6. Před šesti lety byl objeven třetí heterodimer, tvořený TLR-4 a 6, který je skládán na membránách monocytů a makrofágů v přítomnosti kofaktoru CD36 (Stewart et al. 2010). V nedávné době bylo zjištěno, že i TLR-10 tvoří heterodimery s TLR-2 (Godfroy et al. 2012).

### 3.3. Exprese TLR v buněčných typech

Exprese receptorů rodiny Toll-like probíhá především v rámci buněk imunitní a nervové soustavy. TLR receptory se však vyskytují i u dalších buněčných typů, například v endoteliálních buňkách (Gibson III, Frank et al. 2008; Wang et al. 2009). Z imunokompetentních buněk zmíním především granulocyty, lymfocyty, dendritické buňky, a monocyty (aktivací se transformují v makrofágy). V nervové soustavě jsou to především mikroglie. TLR jsou i v dalších podpůrných gliových buňkách jako jsou astrocyty, oligodendrocyty i schwannovy buňky a také v centrálních i periferních neuronálních buňkách (Vollmer et al. 2005; Yoshimoto a Nakanishi 2006). Přítomnost konkrétního typu TLR receptorů na konkrétním buněčném typu zásadně určuje jejich význam v organismu. Například druhy hematopoetických buněk exprimujících TLR receptory, jako jsou lymfocyty či monocyty, mají díky své pohyblivosti více příležitostí k nalezení antigenů, a jsou proto předurčeny ke spuštění imunitní odpovědi (Okun et al. 2011).

### 3.4. Výskyt TLR v buňce

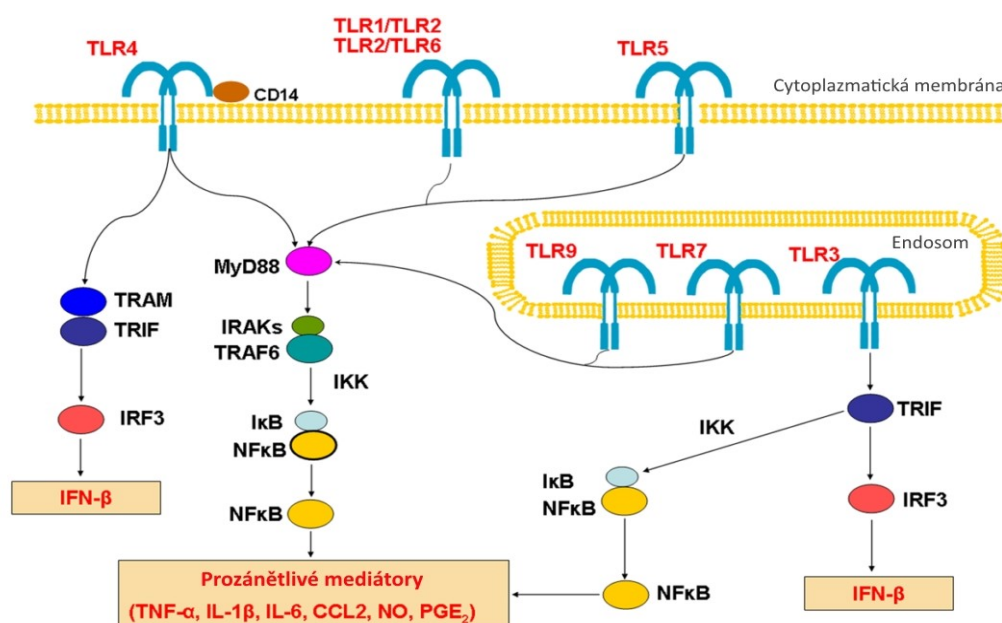
Je nutné podotknout, že jednotlivé typy TLR se u člověka liší svou subbuněčnou lokalizací. Většina toll-like receptorů, se vyskytuje na vnější cytoplasmatické membráně buněk (TLR-1, 2, 4, 5, 6 a 10). Další typy TLR jsou posttranslačně dopravovány pouze do vnitrobuněčných membrán organel typu endoplasmatického retikula či endosomů. Jsou jimi TLR-8 a 9. O TLR-3, 4 a 7 je pak známo, že se mohou nacházet na cytoplasmatické membráně i na vnitřních membránách (Kagan et al. 2008; Nicotra et al. 2012; Liu et al. 2012).

### 3.5. TLR rozdělení podle PAMP

Ve spojitosti se značnou rozmanitostí forem patogenů jsou i TLR receptory specializované na detekování různých typů PAMP i DAMP. Konkrétně TLR-1,2 a 6 rozeznávají exogenní lipoproteiny (např. některé enzymy, transportéry či toxiny); (Alexopoulou et al. 2002). TLR-3 a TLR-7/8 reagují na dvouvláknovou, respektive jednovláknovou RNA (Alexopoulou et al. 2001; Vollmer et al. 2005). TLR-4 rozpoznává lipopolysacharid (LPS), důležitou součást buněčné stěny gramnegativních bakterií (Poltorak 1998). TLR-5 je aktivován v přítomnosti flagelinu, stavební jednotky bakteriálních bičíků (Hayashi et al. 2001), TLR-9 je aktivován CpG oligonukleotidy dsDNA (Viglianti et al. 2003), exogenní ligand receptoru TLR-10 zatím není přesně znám a TLR-11 zaznamenává protein profilin a jeho homology na uropatogenních bakteriích (Yarovinsky 2005).

### 3.6. Mechanismy nitrobuňčné signalizace spouštěné TLR

Pokud na detekční doménu konkrétního TLR doputuje odpovídající ligand, tento receptor se jeho navázáním aktivuje. Většina TLR receptorů, s výjimkou TLR-3, po aktivaci signalizuje základní drahou přes myeloidní diferenciační faktor 88 (MyD88), který aktivuje skupinu kináz asociovanou s receptorem pro IL-1 (IRAK). Ty zajistí fosforylaci další skupiny proteinů včetně TRAF6, faktoru 6 asociovaného s receptorem tumor nekrotického faktoru (TNF), což vede k fosforylaci komplexu kinázy s inhibitem nukleárního faktoru  $\kappa$ B (IKK complex). Fosforylace tohoto komplexu vede k degradaci inhibitoru a umožnění translokace nukleárního faktoru  $\kappa$ B (NF $\kappa$ B) do jádra, kde spustí transkripci odpovídajících genů. TLR-1, 2, 4 a 6 využívají skupinu adaptorových proteinů TIR domény (TIRAPs), jejichž prostřednictvím se vážou k MyD88, odkud pokračuje signalizace po výše popsané základní dráze (Buchanan et al. 2010; Liu et al. 2012; Okun et al. 2011), schematicky znázorněné v obrázku č. 1 níže.



**Obrázek 1:** Schéma intracelulárních signalizačních drah Toll-like receptorů v savčích buňkách. (Převzato a upraveno z: Liu et al. 2012)

Aktivace TRAF6 souběžně spouští dráhy mitogenem p38 aktivované proteinové kinázy (MAPK), dráhu kinázy regulované extracelulárním signálem (ERK) a c-Jun N-terminální kinázy (JNK), které způsobují syntézu řady chemokinů a jiných mediátorů zánětu (Gao et al. 2009). TLR-3 spouští signalizaci pomocí TLR-adaptorového interferon  $\beta$  indukujícího proteinu (TRIF). TRIF dráha ústí v aktivaci transkripčního interferon regulačního faktoru 3 (IRF3) a expresi interferonu typu I- $\beta$  (IFN  $\beta$ ), který působí protizánětlivě. Tuto dráhu iniciuje i TLR-4, na který se TRIF váže přes adaptorovou molekulu TRAM. Adaptorová

funkce TRAM byla recentně popsána i v makrofázích s expresí TLR-2, kde vede k produkci cytokinu Ccl5 a interferonu  $\beta$  (IFN  $\beta$ ); (Nilsen et al. 2015; Yamamoto et al. 2002, 2003).

Před dvěma lety skupina Marije Oosting z Nizozemí ukázala, že TLR-10, jehož ligandy ani přesné mechanismy signalizace zatím nejsou dostatečně objasněny, působí v heterodimerním spojení s TLR-2 jako inhibiční receptor. Tento komplex stimuluje tvorbu protizánětlivého cytokinu IL-1Ra (IL-1 receptor antagonist), který kompetitivně blokuje receptor pro IL-1 a tím brání signalizační kaskádě vedoucí k zánětu (Oosting et al. 2014).

### 3.7. TLR v nervové soustavě

V následující tabulce jsou uvedeny Toll-like receptory nacházející se u vybraných savců v buňkách nervové soustavy. Je zde vyznačeno, zda byla detekována příslušná mRNA nebo přímo protein.

**Tabulka 1:** distribuce TLR receptorů v nervové soustavě (Upraveno podle: Lee et al. 2013)

| Buněčný typ     | TLR              | Exprese | Druh | Reference     |
|-----------------|------------------|---------|------|---------------|
| Mikroglie       | TLR1-9           | mRNA    | Č    | 1, 2, 3       |
|                 | TLR1-4           | protein | Č    | 1, 2, 3       |
|                 | TLR1-9           | mRNA    | M    | 13, 15, 21    |
|                 | TLR2,4,9         | protein | M    | 13, 17, 29    |
| Astrocyty       | TLR1-5,9         | mRNA    | Č    | 1, 2, 4       |
|                 | TLR3,4           | protein | Č    | 1, 2          |
|                 | TLR1-9           | mRNA    | M    | 2, 6, 9       |
|                 | TLR2-5,9         | protein | M    | 2, 6, 9, 22   |
| Oligodendrocyty | TLR1-9           | mRNA    | Č    | 2, 28         |
|                 | TLR2             | protein | Č    | 25            |
|                 | TLR2-4           | mRNA    | P    | 5             |
|                 | TLR2-4           | protein | M, P | 5, 16, 27     |
| Schwanovy buňky | TLR2             | protein | Č    | 20            |
|                 | TLR1-9           | mRNA    | M, P | 8, 10         |
|                 | TLR3,4           | protein | P    | 12, 15        |
| Neurony         | TLR1-4           | mRNA    | Č    | 23            |
|                 | TLR3,4,7,9       | protein | Č    | 23, 24        |
|                 | TLR1-9           | mRNA    | M    | 10, 26        |
|                 | TLR2-4,6-8,11-13 | protein | M    | 1, 18, 19, 26 |

Č – člověk, M – myš, P – potkan

Reference:

(1.) Barajon et al. 2009; 2.) Bowman et al. 2003; 3.) Bsibsi et al. 2002, 4.) 2006, 5.) 2012a; 6.) Carpentier et al. 2005; 7.) Cassiani-Ingoni et al. 2006; 8.) Colomar et al. 2003; 9.) El-Hage et al. 2011; 10.) Goethals et al. 2010; 11.) Jack et al. 2005; 12.) Karanth et al. 2006; 13.) Kielian et al. 2005; 14.) Lee a Lee 2002; 15.) Lee et al. 2007; 16.) Lehnardt et al. 2006, 17.) 2007; 18.) Mishra et al. 2006, 19.) 2008; 20.) Oliveira et al. 2003b; 21.) Olson a Miller 2004; 22.) Park et al. 2006; 23.) Préhaud et al. 2005; 24.) Qi et al. 2011b; 25.) Sloane et al. 2010; 26.) Tang et al. 2007b; 27.) Taylor et al. 2010; 28.) Yao et al. 2008b; 29.) Yoon et al. 2008)

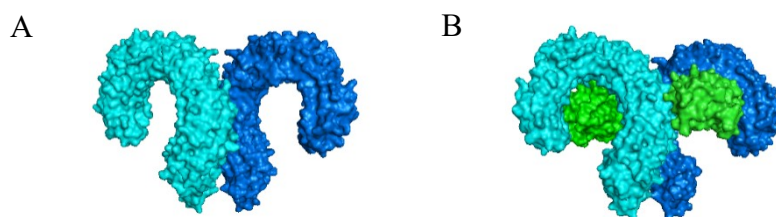
## 4. Toll-like receptor 4 (TLR-4)

---

### 4.1. Obecné vlastnosti TLR-4

Toll-like receptor 4 je transmembránový receptor typu I, který je u člověka lokalizován na 9. chromozomu (NCBI 2016). Podobně jako další TLR má extracelulární C-terminální doménu bohatou na leucinové repetice (LRR), transmembránový úsek a intracelulární N-terminální TIR doménu a tvoří homodimery na cytoplasmatické membráně buněk. Při specifických podmínkách, konkrétně navázáním endogenního oxidovaného lipoproteinu o nízké denzitě (oxLDL) na kofaktor CD36, se řízením tohoto kofaktoru vytváří i neobvyklý heterodimer TLR-4,6, jenž je vzápětí internalizován do vnitrobuněčného váčku, odkud spouští svou signalizaci (Stewart et al. 2010).

PAMP vázajícím se na LRR doménu TLR-4 je především lipopolysacharid (LPS), součást buněčné stěny gramnegativních bakterií (Hoshino et al. 1999; Poltorak 1998).



**Obrázek 2:** Na obrázku A je znázorněn povrch samotných extracelulárních domén homodimeru TLR-4 (modré). Vpravo (B) jsou pak extracelulární domény po vazbě se dvěma molekulami kofaktoru MD-2 (zelené). Vlastní zobrazení na základě krystalografických dat z databáze proteinových struktur (3FXI, dostupná z: [www.rcsb.org](http://www.rcsb.org)), vytvořené v programu PyMOL ver.0,99.

### 4.2. Molekuly interagující s TLR-4 receptory

Díky spolupráci s koreceptory či kofaktory mohou některé TLR receptory specifičtěji identifikovat konkrétní mikrobiální antigeny a spouštět rozdílné imunogenní kaskády. K úspěšné aktivaci TLR-4 je u většiny imunokompetentních buněk nutná tvorba dimeru TLR-4 s glykoproteinem, myeloidním diferenciačním proteinem 2 (MD-2); (Shimazu et al. 1999). V případě jiných buněčných typů, konkrétně B buněk a neuronů dorzálních ganglií spolupracuje s receptorem myeloidní diferenciační protein 1 (MD-1) místo svého homologa, MD-2 (Acosta a Davies 2008).



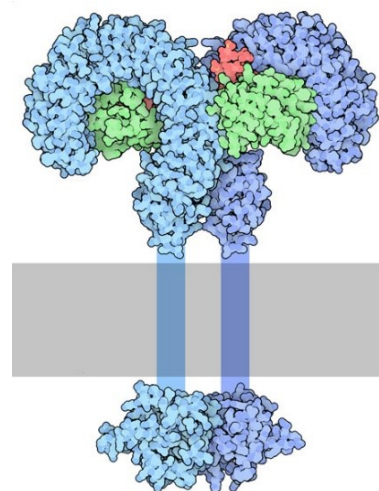
TLR-4 také spolupracuje s ukotvenou formou koreceptoru CD14. Ten nejprve s pomocí lipopolysacharid vázacího proteinu (LBP) v séru naváže lipopolysacharid 1 (LPS1), který potom přenese na volný MD-2, nebo rovnou na komplex monomerního TLR-4 s MD-2. Až poté se vytváří aktivní dimer TLR-4. Tím je receptorový komplex kompletní a dimerizací vyvolaná konformační změna způsobí následnou signalizaci uvnitř buňky (Kobayashi et al. 2006; Nagai et al. 2002; Park et al. 2009; Peri et al. 2010).

**Obrázek 3:** Zobrazení funkčního TLR-4 receptorového komplexu.

Extracelulární domény dvou podjednotek TLR-4 (modrá a fialová) nad šedým obdélníkem (plazmatická membrána) jsou ve vazbě s MD-2 molekulami (zelené), které přivedly každá po 1 molekule LPS (červené).

Transmembránové úseky obou molekul TLR-4 jsou znázorněny pouze ilustrativně tlustými čarami. Zajišťují napojení do vnitřku buňky na TIR domény.

Pro model intracelulární Toll IL-1 receptorové domény byla použita struktura 2J67, TIR doména lidského TLR-10 (Goodsell 2011).

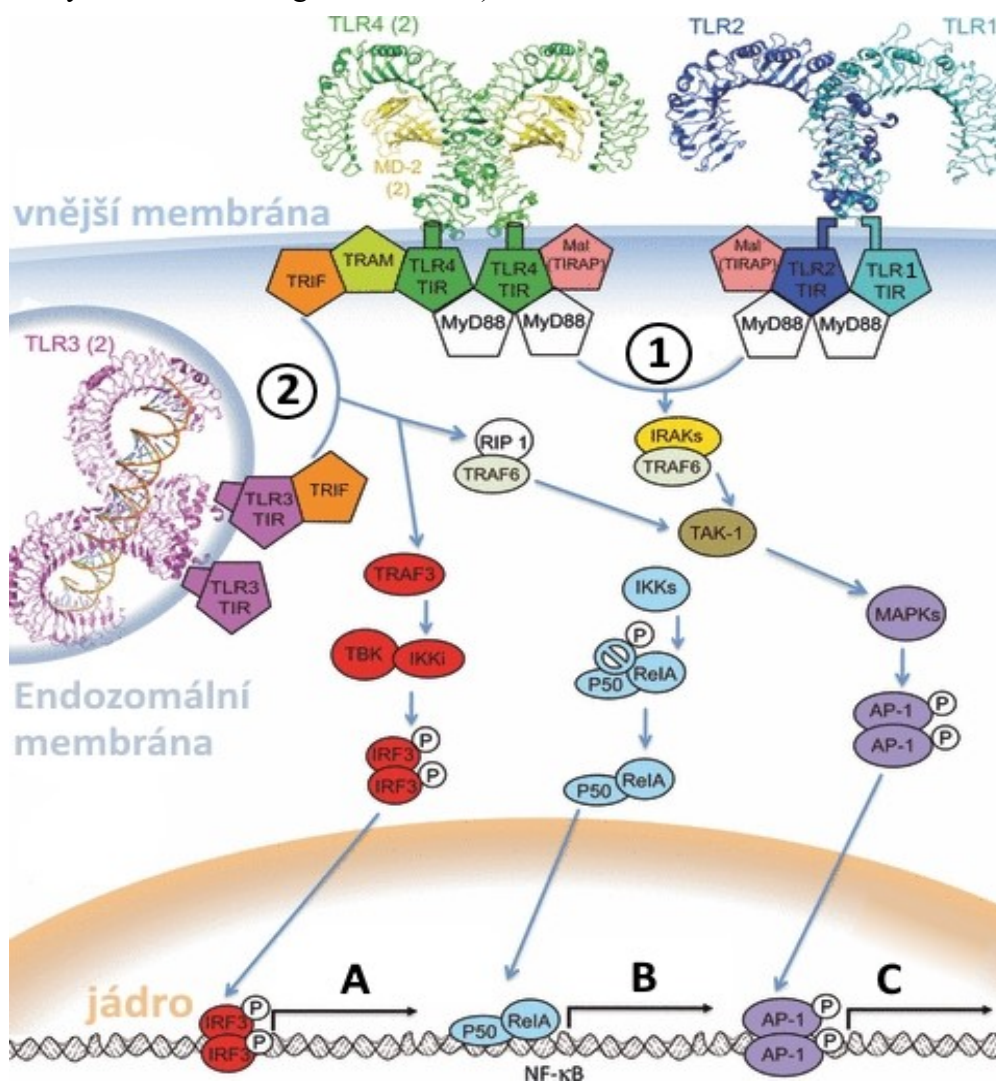


Ve zralých B buňkách probíhá aktivace TLR-4 receptoru především interakcí se specifickým komplexem sestávajícím z glykoproteinu MD-1 a toll-like receptorového proteinu RP105, specifického pro maturované B lymfocyty (Ogata et al. 2000; Ohto et al. 2011).

#### 4.3. Intracelulární kaskády spouštěné TLR-4

Tento člen rodiny TLR je dle známých údajů výjimečný svou schopností využít obě nezávislé vnitrobuněčné kaskády, typické pro tuto rodinu. Každá z nich vede k rozdílnému působení na tvorbu zánětu. Tou první je na obrázku 1 a 4 znázorněná kanonická **dráha** adaptorového proteinu **MyD88**, vedoucí přes řadu aktivačních MAP kináz k produkci prozánětlivých mediátorů jako interleukin-6 (IL-6), interleukin-1 (IL-1), prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), TNF- $\alpha$  a Ccl5. Regulace Ccl5 je řízena přímo aktivátorovým proteinem-1 (AP-1), aktivovaným NF $\kappa$ B. Na MyD88 molekulu se TLR-4 napojuje s pomocí TIRAP, který ukotví MyD88 na membránu a usnadní TIR úseku na MyD88 asociovat s TIR doménou TLR-4, což umožní vést signál dál na IRAK kinázy a pokračovat v dalším přenosu, viz obrázek 4 (Buchanan et al. 2010; Kagan a Medzhitov 2006; Kawai a Akira 2007).

Druhá **dráha**, **TRIF** dependentní, je MyD88 nezávislá a v případě TLR-4 využívá vazbu adaptorové molekuly TRAM a endocytózu obsazeného TLR-4 komplexu. Další signalizace probíhá z raného endozomu. TRIF se následně buď přes TRAF-6 napojí na prozánětlivou dráhu MyD88 vedoucí k tzv. „pozdní fázi“ aktivace NFκB, anebo se přes TRAF-3 spustí kaskáda TBK1 (*TANK binding kinase 1*), kinázy napojené na TRIF, viz obrázek 4. Ta inhibuje NFκB kinázový komplex a fosforyluje interferon regulační faktor-3 (IRF3), který po dimerizaci a translokaci do jádra indukuje tvorbu protizánětlivého interferonu β (IFN-β) a dalších interferonů první třídy. Tato dráha také indukuje tvorbu protizánětlivého cytokinu IL-10 a udržuje určitou rovnováhu ve vlivu na zánět (Buchanan et al. 2010; Häcker et al. 2006; Husebye et al. 2006; Kagan et al. 2008).



**Obrázek 4:** Schéma signalizačních drah TLR-4. Pro ucelenou představu je znázorněno i napojení TLR-3 a TLR-1,2 receptorů. **MyD88** dependentní dráha (**1**) a **TRIF** dependentní dráha (**2**) vedou k expresi genů různé fáze zánětu. TRIF prostřednictvím TRAF3 vede k expresi protizánětlivého Interferonu β a dalších interferonů typu I (**A**), ale přes proteiny RIP1 a TRAF6 vede i k „pozdní“ aktivaci NFκB. Vazba molekuly MyD88 ústí v produkci řady „raných“ prozánětlivých mediátorů prostřednictvím kanonické dráhy (**B**) nebo MAPK dráhy (**C**).

(Převzato a upraveno z: Buchanan et al. 2010)

TLR-4 se podílí i na dalším způsobu tvorby protizánětlivého interleukinu 10 (IL-10), závislém na NFκB1 regulaci. (Banerjee et al. 2006)

#### 4.4. Endogenní ligandy TLR-4

Existuje široké spektrum látek, které ovlivňují TLR-4 receptor a mají původ ve vlastním organismu. Látky, jejichž přítomnost v extracelulárním prostoru není fyziologicky běžná, řadíme k výše zmíněným DAMP. Jejich působením mnohdy vzniká zánět. Vazbou na TLR-4 receptor některých buněk mohou také způsobovat nociceptivní signalizaci upozorňující na buněčná poškození. K těmto látkám patří např. fragmenty proteinů extracelulární matrix, jako jsou **fibrinogen, fibronectin, biglykan a tenascin C**, proteiny teplotního šoku (**HSP 60, 70 a 90**), polysacharidové **fragmenty heparan sulfátu, fragmenty kyseliny hyaluronové** či **nasycené mastné kyseliny**. TLR-4 receptor váže i **β-amyloidní peptid 42**, který je znakem patogeneze Alzheimerovy choroby (Buchanan et al. 2010; Li et al. 2016; Vabulas et al. 2002).

Dalším endogenním ligandem receptoru TLR-4 je tzv. High mobility group box 1 (**HMGB1**) protein, patřící ke skupině proteinů s HMG-box doménou. HMGB1 je významným chromatinovým proteinem. Při zánětu je cíleně vylučován buňkami vrozené imunity a slouží jako pozdní mediátor produkce cytokinů. HMGB1 indukuje v primárních lidských, respektive savčích makrofázích výlev prozánětlivých cytokinů prostřednictvím aktivace TLR-4 receptorové signalizace (Yu et al. 2006).

**Nociceptin/orphanin FQ (N/OFQ)** je opioidní peptid složený ze 17 aminokyselin, který je kódován i v lidském genomu a vzniká štěpením proteinu prepronociceptin/orphanin FQ. Je ligandem nociceptinového receptoru, ale nepůsobí na klasické opioidní receptory. Jeho exprese probíhá v centrální i periferní nervové soustavě, včetně menších neuronů DRG (Pettersson et al. 2002). Podle podmínek v těle a výskytu jeho receptoru na různých neuronech může působit proalgesicky, nebo podobně jako opioidy analgeticky (Katsuyama et al. 2011; Pan et al. 2000).

**Nasycené mastné kyseliny (SFA)** acetylované na LPS jsou důležité pro funkčnost této molekuly. Pokud se enzymaticky oddělí, lipopolysacharid ztrácí své vlastnosti endotoxinu. Bylo zjištěno, že samostatně jsou tyto nasycené mastné kyseliny schopny aktivovat TLR-4 signalizaci a podílet se na indukci produkce NFκB a cyklooxygenázy-2 (COX-2) v myších buněčných liniích odvozených od makrofágů. Naopak nenasycené formy mastných kyselin působí inhibičně (Lee et al. 2001).

**Fragmenty hyaluronové kyseliny** (fHA), oligomerní produkty rozpadu lineárního heteropolysacharidu, který je běžný v extracelulárním prostředí mnoha organismů včetně člověka, mají význam při zánětu. Stimulují prostřednictvím TLR-4 po dráze MyD88 tvorbu TNF- $\alpha$ , který pomáhá při maturaci DC. Jejich působení je tedy prozánětlivé. Po aktivaci TLR-4 receptoru se na těchto DC snižuje úroveň jeho další produkce a tím se omezuje možnost jiných vlivů na DC přes tento receptor (Termeer et al. 2002).

#### 4.5. Exogenní ligandy TLR-4

Původním agonistou TLR-4 receptoru, řadícím se k PAMP, je **lipopolysacharid** (LPS), který je strukturní součástí buněčné stěny gramnegativních bakterií a při jejich zániku je uvolňován a stává se endotoxinem. Jeho stabilní součástí je Lipid A, který je rozpoznáván TLR-4 receptorovým komplexem. LPS se u jednotlivých druhů organismů může mírně lišit (Poltorak 1998).

Lipopolysacharid produkovaný bakterií *Rhodobacter sphaeroides* (**LPS-RS**) však funguje jako přírodní antagonist receptoru TLR-4. Nejnovější práce také ukazují, že LPS-RS může fungovat i jako antagonist TLR-2 receptoru (Jurga et al. 2016). Existuje i **mutantní LPS**, kterému chybí část řetězce (zbytek kyseliny myristové v Lipidu A). Pochází z kmene *E.Coli* msbB a je také TLR-4 antagonistou (Hutchinson et al. 2008). Dalším antagonistou je i analog LPS, **eritoran**, také známý pod označením E5564, který se váže na MD-2, čímž blokuje dimerizaci TLR-4 receptoru a jeho další signalizaci (Park et al. 2009).

Je známa řada dalších, tělu nepůvodních látek, které jsou schopné interagovat s receptorem TLR-4 a působit jako agonisté podporou jeho funkce, nebo jako antagonisté mohou např. bránit vzniku receptorového komplexu a tím zablokovat další signalizaci. Mezi blokátory tvorby funkčního TLR-4 receptorového komplexu patří tricyklická antidepresiva, deriváty  $\beta$ -aminoalkoholů, či tříuhlíkaté deriváty cukrů. V tomto směru působí i uměle syntetizovaní antagonisté jako MD2-I, YH-1 až 4. Polymyxin B funguje jako antagonist tím, že přímo sekvstruje LPS (Li et al. 2016).

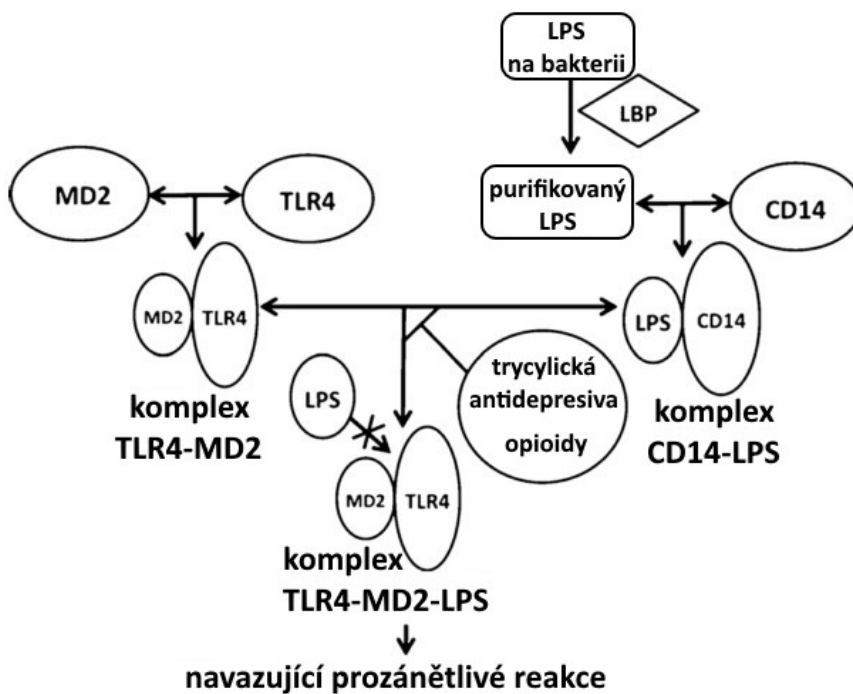
Syntetizovaný antagonist nazvaný **FP-1** působí při opakovaném podání proti mechanické alodynii a termální hyperalgesii, projevům patologického stavu neuropatie (Bettoni et al. 2008). Vůči neuropatickým projevům působí i **TAK-242**, další drobný antagonist TLR-4, který je vzhledem ke své schopnosti procházet hematoencefalickou bariérou i látka s velkým potenciálem pro léčbu neuropatické bolesti. Na potkaním modelu chronické konstriční neuropatie (CCI) působí ve vyšších dávkách přes TLR-4 dráhu adaptorového proteinu

MyD88 na snížení tvorby prozánětlivých látek jako NFκB, TNF-α a IL-1β (Zhao et al. 2015).

**Paclitaxel**, obchodním názvem Taxol, je jednou z nejužívanějších, původem přírodních látek, pro léčbu rakovinných nádorů. Stabilizuje v buňkách tvorbu mikrotubulů a brání tak buněčnému dělení (Nogales et al. 1995). Jedním z nežádoucích vedlejších účinků paclitaxelu je však indukce periferní neuropatické bolesti, která často vede až k ukončení chemoterapie. Nejnovější nálezy ukazují, že paclitaxel může vést k rozvoji neuropatie nejen působením na mikrotubuly periferních nervů, ale také pomocí modulace synaptické přenosu na míšní úrovni. Důležitou roli v tomto procesu hraje funkční interakce mezi TLR4 a TRPV1 receptory (Li et al. 2015).

**Opioidní látky** jsou používány dlouhá léta k analgesii prostřednictvím opioidních receptorů (δ, κ a μ). Některé z těchto látek nebo jejich metabolity (např. M-3-G z morfinu) jsou ale nezávisle na této dráze schopné vázat se i na MD-2, stavební složku TLR-4 receptoru a funkčně tento receptor aktivovat bez přítomnosti LPS. Tato aktivace TLR-4 na gliových buňkách vede ke zvýšené produkci nociceptivních cytokinů. Ve výsledku působí proti původnímu analgetickému účinku a podílí se na vzniku a udržování neuropatické bolesti. Oproti tomu stereoizomer morfinu, naloxon a jemu podobný naltrexon byly popsány jako antagonistické ligandy všech tří dosud popsaných opioidních receptorů. Oba jsou však i přímí antagonisté receptoru TLR-4 (Liu et al. 2000). Jeho inhibicí potlačují aktivaci mikrogliálních buněk, která je spojena s hypersenzitivitou u fibromyalgie, onemocnění charakterizovaného ztuhlostí a chronickou bolestivostí různých částí těla (Li et al. 2016). Recentní článek popisuje, že tyto látky konkrétně neovlivňují produkci faktoru NFκB ani MAP kinázovou dráhu, ale potlačují TRIF dráhu vedoucí k produkci TNF-α, NO a reaktivních kyslíkových radikálů a tím snižují neurotoxicitu způsobenou LPS (Wang et al. 2016).

Dlouhodobým užíváním opioidů vůči nim stoupá tolerance, pro stejný účinek se musí zvyšovat dávka, a snadno může vzniknout závislost na zvoleném opioidním léčivu. To jsou významné důvody pro hledání nových účinných látek, které by mechanismus vzniku patologie využily a zároveň minimalizovali vedlejší účinky (Hutchinson et al. 2008; Li et al. 2016).



**Obrázek 5:** Mechanismus tvorby receptoru TLR-4 před vytvořením funkčního dimeru. Je zde znázorněna inhibice opioidy a tricyklickými antidepresivy. Seznam cizojazyčných zkratk viz výše (Upraveno podle: Li et al. 2016).

## 5. Exprese TLR-4 receptorů v imunokompetentních buňkách

---

Receptor TLR-4 je především jednou z hlavních komponent zajišťujících vrozenou imunitní odpověď. Jeho exprese proto probíhá zejména na imunokompetentních buňkách, počínaje buňkami nespecifické imunity, granulocyty a makrofágy, a konče buňkami specifické imunity, lymfocyty.

### 5.1. Funkce TLR-4 receptorů v imunitních reakcích

Základní funkcí TLR-4 receptorů je rozpoznávat přítomnost gramnegativních bakterií v organismu. To zvládají prostřednictvím vazby Lipidu A, součásti Lipopolysacharidu (LPS), na receptorový komplex TLR-4.

**Dendritické buňky** (DC), antigen prezentující buňky vyskytující se v krvi a tkáních, produkují TLR-4 a při detekci LPS s pomocí signalizačních drah TLR-4 dozrávají (Termeer et al. 2002). Maturované DC vystavují na svůj povrch MHC I komplexy s navázaným antigenem pro rozpoznání T lymfocyty, čímž zajišťují napojení na adaptivní buněčnou imunitu.

Lymfocyty jako jsou různé typy pomocných **T buněk**, **B** a **NK buňky** také exprimují TLR-4 receptory, přičemž maturované B buňky mají svůj specifický typ Toll-like receptorového proteinu nazvaný RP105. Tato pozorování byla provedena na myších (Hoshino et al. 1999; Ogata et al. 2000; Reynolds et al. 2010). **Regulační T buňky** reagují přímo prostřednictvím TLR-4 na lipopolysacharid tím, že zesílí své supresorové působení na cílové buňky (Caramalho et al. 2003). Pomocné lymfocyty **Th17** tvoří s pomocí TLR-4 aktivace zvýšené množství cytokinu IL-17 (Reynolds et al. 2010).

V **NK buňkách** a **makrofázích** v děloze byla potvrzena stabilní exprese TLR-4 receptorů izolací mRNA i průtokovou cytometrií. Spolu s TLR-2 a TLR-3 při infekci patogenem vede jejich aktivace k produkci interferonu  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), což vede k aktivaci B buněčné odpovědi a v makrofázích produkci cytokinů IL-1 $\beta$ , IL-10 a IL-12. Buňky díky TLR receptorům mohou rychle reagovat na případnou infekci v místě kontaktu matky s jejím plodem při zachování imunotolerance vůči plodu (Duriez et al. 2014; Eriksson et al. 2006).

K syntéze TLR-4 molekul dochází i v **mastocytech** (žírných buňkách), jež se tím stávají citlivými k lipopolysacharidu gramnegativních bakterií, a také v **monocytech**, které pak dozrávají v **makrofágy** a z krve se přesouvají do zasažených tkání (Hoshino et al. 1999; Varadaradjalou et al. 2003).

Granulární leukocyty jsou citlivé k LPS v těle, ale většinou k úspěšné odpovědi potřebují přítomnost monocytů. Exprese TLR-4 je prokázána v **bazofilech, neutrofilech i eozinofilech**, ale v případě eozinofilů existují sporné zdroje ohledně závislosti odpovědi na okolních buňkách. Podle článku JoAnn Meerschaert eozinofily izolované z lidské krve nedisponují koreceptorem CD14 a proto potřebují účast jiných, CD14 pozitivních, buněk jako jsou monocyt (Meerschaert et al. 2000; Plotz 2001; Sabroe et al. 2002).

## 6. Exprese TLR-4 receptorů v nervové soustavě

---

**Mikroglie** jako buněčný typ odvozený z hematopoetické kmenové buňky zprostředkovává funkce imunitního systému v nervové soustavě. Musí se umět vypořádat s případnou infekcí, a proto syntetizuje nejvíce členů rodiny Toll-like receptorů, kteří jí pomohou přítomnost patogenů rozpoznat. V lidských buňkách je prokázána exprese TLR-1 až TLR-9, tedy všech, co se v našich tělech vyskytují, s výjimkou TLR-10 (Jack et al. 2005; Jung et al. 2005).

Navzdory představám o převažujícím prozánětlivém působení TLR byla v mikroglíích typu M2 s aktivními TLR-4 pozorována zvýšená produkce protizánětlivých cytokinů a tyto buňky zajistily odstranění zbytků myelinu po poškození neuronu. To vedlo k remyelinizaci pomocí přicházejících oligodendrocytických progenitorů, u nichž byla indukována maturace (Glezer 2006). TLR-4 signalizace u mikroglíi v nedávném výzkumu také vedla k produkci GDNF, růstového faktoru podporujícího vývoj gliových buněk, čímž se receptor TLR-4 podílí i na neuroprotektu (Tanaka et al. 2008).

Exprese TLR-4 receptoru byla pozorována nezávisle v myších i lidských **astrocytech** za pomoci RT-PCR. Při výzkumu astrocytálních vzorků od zdravých lidských dárců byl imunohistochemicky detekován výskyt TLR-4 na povrchu buněk, kdežto na mikroglíálních buňkách byl tento receptor převážně v intracelulárních váčcích, což ukazovalo na rozdíly v signalizaci těchto dvou buněčných typů (Bowman et al. 2003; Bsibsi et al. 2002).

Výzkumy týkající se exprese TLR-4 na tomto buněčném typu zatím podle E. Okuna a kol. nejsou dostatečně průkazné. Pro zamezení možnosti kontaminace používaných vzorků mikroglíemi a pro jednoznačné určení exprese TLR-4 receptoru na astrocytech by bylo vhodné provést dodatečné zkoumání za pomoci single-cell PCR nebo s použitím lepších separačních metod (Okun et al. 2009).

V **oligodendrocytech** není exprese TLR-4 dosud jednoznačně určena, některé studie na potkanech zaznamenaly nízkou hladinu odpovídající mRNA, ovšem bez funkčního proteinu



(Bsibsi et al. 2012b), jiné nepozorovaly ani mRNA tohoto receptoru (Lehnardt et al. 2002). Na lidských immortalizovaných liniích MO3.13 s fenotypovými znaky oligodendrocytů však byla přítomnost TLR-4 mRNA s pomocí RT-PCR stanovena (Yao et al. 2008a). V tomto směru je potřeba vykonat další výzkumy.

**Schwannovy buňky** produkují TLR-4 podle stanovení na průtokové cytometrii s použitím potkaních buněk. Tyto periferní glie zajišťují tvorbu myelinového obalu neuronů mimo CNS, ale jejich exprese několika Toll-like receptorů (konkrétně TLR-2, 3, 4 a 7) nabízí možnost jejich zapojení v dalších ochranných funkcích (Goethals et al. 2010; Hao et al. 2009; Oliveira et al. 2003a).

TLR-4 exprese probíhá v myších **neuronálních progenitorových buňkách** (NPCs) subgranulární zóny (SGZ) a dentálního gyru (DG), ve specifických oblastech mozku, kde probíhá neurogeneze i v dospělosti. U dospělých myší brání jeho zvýšené množství v těchto kmenových buňkách jejich proliferaci (Rolls et al. 2007).

Exprese TLR-4 je prokázána v lidských a potkaních **trigeminálních nociceptorech**, které jsou charakteristické produkcí TRPV1 receptoru (Caterina et al. 1997), citlivého na kapsaicin. V části populace byla imunohistochemicky zobrazena kolokalizace exprese kofaktoru CD14 a TLR-4 (Wadachi a Hargreaves 2006) a v novějším článku už byla prokázána i přímá účast LPS závislé aktivace TLR-4 na senzitivaci trigeminálních TRPV1 receptorů (Diogenes et al. 2011).

**Neurony dorzálních ganglií**, na kterých exprese TLR-4 probíhá, mají specifické složení aktivní formy receptoru. V myších buňkách objevený receptorový komplex se zde skládá ze dvou podjednotek TLR-4 a dvou volných proteinů MD-1, homologů MD-2. Na ně pak může LBP, případně membránová forma kofaktoru CD14 přenést kanonického agonistu, LPS (Acosta a Davies 2008).

Kortikální **neurony** myší produkují TLR-4 a působením interferonu  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) je jejich exprese stimulována. Pro zjištění bylo použito více metod, včetně single cell PCR, DNA čipu (*microarray*) a imunohistochemického barvení (Tang et al. 2007a).

## 6.1. Funkce TLR-4 v modulaci nociceptivní signalizace

S přibývajícím poznáním o Toll-like receptorech a objevením jejich exprese v nervové soustavě se objevovaly hypotézy spekulující o nových funkcích TLR-4 v nocicepci a na jejich základě již vznikla řada studií zabývajících se tímto tématem. Je ale třeba dbát na opatrnost při určování významu nových pozorování, protože nemůžeme vyloučit potenciální

vedlejší účinky při experimentálním použití běžného LPS, vzhledem k tomu, že například skupina Ochoa-Cortese při použití čisté formy lipopolysacharidu, Ultrapure LPS, dosáhla odlišných výsledků než s běžným LPS (Nicotra et al. 2012; Ochoa-Cortes et al. 2010).

Současné představy naznačují, že největší vliv na nocicepci mají TLR-4 receptory na gliových buňkách. Vycházejí z dosavadních objevů, které expresi těchto receptorů v největší míře zaznamenaly na mikroglích, jež plní zásadní funkce v ochraně neuronů, spočívající v rozpoznávání nebezpečných látek v CNS a jejich likvidaci. Je také známá řada mechanismů, kterými glie s neurony dovedou vzájemně komunikovat a ovlivňovat se.

Výzkumy na potkanech a myších ukázaly pronociceptivní roli mikroglálních a astrocytálních TLR-4 receptorů na základě injekčních aplikací agonistů TLR-4. Tímto umělým působením vznikla bolest ve formě taktilní allodynie (Saito et al. 2010) či termální hyperalgesie (Meller et al. 1994) a zvýšila se produkce řady pronociceptivních aktivních látek, jako prostaglandinu E2, TNF- $\alpha$  a dalších cytokinů. Ve studii z roku 2010 byla při kontrolní aplikaci inhibitorů gliální aktivace (např. pentoxifylinu) vytvořená allodynie potlačena, což potvrzuje, že pozorované projevy byly opravdu zprostředkovány aktivitou gliových buněk (Saito et al. 2010).

Dnes víme i o některých způsobech, kterými mohou samotné nociceptivní neurony reagovat na potenciálně přítomné patogeny a škodlivé endogenní látky. Například Diogenes a kol. u potkanů objevili, že LPS aktivované TLR-4 receptory v trigeminálních senzoričních neuronech způsobují senzitivizaci TRPV1 receptorů přítomných na těchto buňkách. Navázání ligandů na vaniloidní receptory potom způsobuje zvýšený vtok  $\text{Ca}^{2+}$  iontů a exkreci CGRP. TLR-4 tak může přispívat přímo k tvorbě infekcí iniciované nociceptivní signalizace (Diogenes et al. 2011). V jiném výzkumu se pak při akutní pulpitidě TLR-4 receptory v trigeminálních nociceptorech podílely na udržování nociceptivní signalizace, neboť tímto modelem indukované behaviorální projevy bolesti byly potlačeny po aplikaci eritoranu, antagonisty TLR-4 receptoru. U potkanů s tímto patologickým stavem vedla zvýšená produkce TLR-4 receptoru také ke stimulaci jím podmíněné tvorby prozánětlivých mediátorů (Lin et al. 2015).

Malé neurony dorzálních ganglií, nociceptory, vykazují výraznou produkci nociceptinu/orphaninu FQ v odpovědi na aktivaci vlastních TLR-4 receptorů způsobenou LPS. Stimulací exprese nociceptinu se TLR-4 zapojuje do modulace nocicepce, protože nociceptin/orphanin FQ je opioidní peptid, který se významným způsobem podílí na

signalizačních drahách nocicepce. V závislosti na řadě podmínek je schopen jejich aktivace, nebo inhibice (Acosta a Davies 2008; Pan et al. 2000).

## 6.2. TLR-4 při patologických stavech v nervové soustavě

Protože se TLR-4 receptory aktivují v důsledku detekce omezeného množství exogenních a endogenních látek, projevuje se jejich vliv zejména při patologických stavech vzniklých následkem infekcí či přímým poškozením nervové tkáně, kdy se do kontaktu s těmito látkami mohou dostat.

## 6.3. Úloha TLR-4 receptorů při stavech neuropatické bolesti

Prvním důkazem, že se TLR-4 podílí přímo na vzniku neuropatické bolesti, je výzkum **mikroglálních** TLR-4 na myším a potkaním modelu neuropatie indukované přetrnutím nervu L5, který navazoval na výzkumy zobrazující zvýšenou hladinu TLR v preklinických modelech patologických bolestivých stavů (Nicotra et al. 2012). Jedinci se zablokovanou funkcí či přímo mutovaným TLR-4 genem v něm vykazují po navození experimentálního modelu sníženou produkci míšních mikroglálních buněk a prozánětlivých cytokinů vzhledem ke kontrolním jedincům s neovlivněnými TLR-4 receptory (Tanga et al. 2005).

**Mikroglální TLR-4** receptor se podílí na iniciační fázi neuropatické bolesti s významnou pomocí jeho koreceptoru CD14. Nepřítomnost této molekuly v jedincích s knock-outovaným příslušným genem výrazně snižuje mechanickou alodynii a termální hyperalgezii, projevy představující neurální **hypersenzitizaci** (Cao et al. 2009).

Práce z různých laboratoří ukázaly úlohu TLR-4 v neuropatii na několika jejích preklinických modelech. V čínské studii použili malou interferující RNA (siRNA) k zablokování TLR-4 receptoru a na modelu chronického konstriktivního poškození sedacího nervu (CCI) u potkanů ukázali, že při omezení produkce prozánětlivých mediátorů zprostředkované TLR-4 v CNS je výrazně snížena mechanická alodynie i termální hyperalgesie (Wu 2010).

Skupina polských vědců potvrdila u potkanů význam receptorů TLR-4 a TLR-2 v míše a DRG pro pozitivní regulaci nociceptivní signalizace na modelu CCI. K odlišení funkce TLR-4 použila čistou formu antagonisty TLR-4, tzv. LPS-RS Ultrapure, se kterou opakovaně potlačovala modelovanou neuropatickou alodynii i hyperalgezii. Při blokádě receptorů se zvýšila analgetická účinnost opioidního preparátu buprenorfinu. To nabízí potenciální možnost zacílení budoucích analgetických léčiv na blokaci TLR-4 a -2 receptorů (Jurga et al. 2016).

Ve skupině laboratoří byla funkce TLR-4 u neuropatických stavů zjišťována pomocí opioidních látek, naloxonu a naltrexonu. Obě sekundárně fungují jako antagonisté TLR-4, blíže viz exogenní ligandy TLR-4. Jejich podáním byla dočasně potlačena neuropatická bolest na potkaním modelu neuropatie indukované chronickou konstrikcí (CCI) sedacího nervu (Hutchinson et al. 2008). Účinky těchto dvou látek na inhibici mikrogliální aktivity a tím i na možnost vzniku neuropatických stavů byly v myších mikrogliálních liniích potvrzeny *in vitro* s využitím imunohistochemie v kombinaci s řadou metabolických detekčních esejí pouze pro inhibici TRIF dependentní TLR-4 signalizace. (Liu et al. 2000; Wang et al. 2016).

Před dvěma lety byl proveden výzkum, který měl za cíl zkoumat neuropatické mechanismy za využití modelů indukujících neuropatickou alldynii pomocí podvazu či přetnutí části míšních nervů (SCI) a zjistit efektivitu potenciálních analgetických léčiv. Badatelé u zkoumaných potkanů přerušili míchu po celé šířce na úrovni mezi thorakálními segmenty T8 a T9. Tím vytvořili nový model centrální neuropatie (SCT), na kterém mohli pozorovat změny v expresi proteinů způsobené přímo vlivem tohoto neuropatofyziologického stavu. Výzkumníci potvrdili, že vznik alldynie pozorovaný také na modelech SCI, byl přímým následkem přerušení míchy. V pokusu také zaznamenali dlouhodobě zvýšenou aktivitu mikroglií a zároveň vyšší produkci mRNA kódující TLR-4 a purinergní receptory, které patří k receptorům spojovaným s aktivací těchto gliových buněk (Kigerl et al. 2007). Na základě časového rozložení exprese cytokinů upřesnili funkce těchto látek produkovaných následkem aktivace mikroglií. IL-6 a IL-1 $\beta$  se podílely především na indukci neuropatické bolesti, kdežto TNF- $\alpha$  se více podílel na udržování této bolesti vzhledem k jeho zvýšené hladině pozorované i šedesát dní po zákroku (M'Dahoma et al. 2014).

S objevením exprese **TLR-4** na primárních senzoričských neuronech se začal studovat i přímý vliv tohoto receptoru na **neuronální** buňky. Tomuto tématu se věnuje i současná mezinárodní studie, kterou nyní více přiblížím. Studie sleduje vliv chemoterapeutika **Paclitaxelu** na rozvoj neuropatie a bolestivých stavů a měli na ní významný podíl i členové laboratoře Funkční morfologie AVČR, která se věnuje i dalším mechanismům ovlivňujícím vznik a přenos bolesti.

Na myších, potkaních i lidských neuronech dorzálních ganglií byla v této studii na modelu chemoterapií indukované neuropatie (CIPN) zkoumána hypotéza, zda Paclitaxel způsobuje senzitivizaci nociceptorů prostřednictvím TLR-4 receptoru. Nociceptory jsou charakteristické expresí TRPV1 iontových kanálů (Caterina et al. 1997; Morales-Lázaro a Rosenbaum 2015), proto byl pro účely ověření jejich identity a správné interpretace

působení Paclitaxelu mimo jiné proveden úspěšný test kolokalizace TLR-4 a TRPV1 exprese v DRG. V pokusech byl používán antagonist TRPV1, AMG9810, pro nějž bylo ověřeno, že zabraňuje Paclitaxelem indukované hyperalgesii a je do určité míry schopen snižovat senzitivitu neuronů k původnímu prahu mechanické aktivace.

Paclitaxel v tomto výzkumu zvýšil úroveň exprese TRPV1 kanálů na jím ovlivněných senzoričských neuronech a u těchto neuronů také výrazně změnil snížení odpovědi postsynaptických míšních neuronů na opakované podávání capsaicinu. Souběžně aplikovaný TLR-4 antagonist, LPS-RS, u potkanů zabránil zvýšení úrovně exprese TRPV1 a naznačil hypotézu funkční souvislosti TLR-4 s TRPV1 receptory (Li et al. 2015).

Na uměle vytvořené kotransfekované lidské buněčné linii HEK293 tito výzkumníci také ukázali, že působením Paclitaxelu nebo LPS je TRPV aktivace podpořena při současné koexpresi s TLR-4 receptorem. Na myších neuronech zadního míšního rohu pak potvrdili hypotézu, že změny funkce presynaptických TRPV1 receptorů jsou způsobeny přímo aktivací TLR-4 receptoru. Pozorovali totiž změnu klidové frekvence miniaturních excitačních postsynaptických proudů (mEPSC) po aplikaci samotného Paclitaxelu v porovnání s kombinovanou aplikací Paclitaxelu a LPS-RS. Inhibitor TLR-4 receptoru způsobil, že frekvence mEPSC byla v druhém případě srovnatelná s bazální aktivitou TRPV1. Výzkumná skupina zde jako první ukázala přímé působení Paclitaxelu na presynaptické TRPV1 přítomné na PAF, prostřednictvím TLR-4 signalizace (Li et al. 2015). Jejich výsledky jasně ukázaly význam TLR-4 a TRPV1 receptorů u bolestivých neuropatických stavů vyvolaných podáváním cytostatika Paclitaxelu.

## 7. Závěr

---

Toll-like receptory jako takové byly objeveny relativně nedávno a jistě dosud nebyly zmapovány všechny jejich funkce. Jsou známé především svou rolí v iniciaci vrozené imunity po rozpoznání mikrobiálních a jiných konzervovaných vzorů souvisejících s poškozením a jejich úloha v nervovém systému zatím není v širokém obecném povědomí veřejnosti.

Samotný TLR-4 je unikátem i mezi ostatními příslušníky své receptorové rodiny. Používá ke spouštění navazujících dějů dvou rozdílných signalizačních drah, což v lehce upravené formě sdílí jen TLR-3 a zřejmě i TLR-2. Může být aktivován jak na povrchu buňky, tak uvnitř organel a jeho výskyt v řadě buněčných typů po celém těle mu otevírá rozsáhlé pole působnosti.

Imunitní buňky v těle využívají TLR-4 receptor jako jednu z prvních cest odpovědi na infekci patogenními organismy a s jeho pomocí jsou některé buňky schopny rozšířit signál a aktivizovat i adaptivní buněčnou imunitu. Nervové a gliové buňky jsou schopny podobné iniciace obranných mechanismů a ukazuje se, že některé látky různého původu skutečně aktivují tento receptor a ten se pak podílí na vzniku nebo udržování nociceptivní signalizace vedoucí k pocitu bolesti. Může se jednat o důsledek poruchy rovnováhy nervové regulace, zranění samotné nervové soustavy anebo narušení nervové soustavy vnějšími patogeny.

K současným cílům výzkumu TLR-4 receptoru patří především jeho vliv na vrozenou imunitu, infekční a zánětlivá onemocnění a tyto cíle jsou nyní rozšířeny i o vlivy na patologické bolestivé stavy zahrnující chronickou bolest a neuropatickou bolest. Výzkum probíhá s využitím širokého spektra metod především na modelech savců, konkrétně potkanech a myších.

Do budoucna jsou potřeba nová léčiva, která by počítala s vlivem TLR-4 a mohla se tak úspěšněji vyhnout vzniku vedlejších účinků. Vývoji můžeme napomoci dalším výzkumem příčin vzniku chronických bolestivých stavů a zjišťováním přesných mechanismů účinku TLR-4 v takových podmínkách, nebo hledáním nových funkcí ostatních receptorů této rodiny.

Byť se v této práci zmiňuji o velkém funkčním rozsahu TLR-4, není možné tu popsat všechny jeho role a využití. Řada laboratoří po celém světě se věnuje objasňování mechanismů jeho funkce v imunokompetentních buňkách a pole bádání o zapojení TLR-4 v signalizaci nocicepce se dosud teprve rozvíjí. Věřím, že i tato práce pomůže k rozšíření povědomí o působnosti Toll-like receptoru 4 a poskytne motivaci pro další výzkumy.

## 8. Seznam použité literatury

---

- ACOSTA, Cristian a Alun DAVIES, 2008. Bacterial lipopolysaccharide regulates nociceptin expression in sensory neurons. *Journal of Neuroscience Research* [online]. 4., roč. 86, č. 5, s. 1077–1086. ISSN 03604012. Dostupné z: doi:10.1002/jnr.21565
- ALEXOPOULOU, Lena, Agnieszka Czopik HOLT, Ruslan MEDZHITOV a Richard A. FLAVELL, 2001. Recognition of double-stranded RNA and activation of NF-kappaB by Toll-like receptor 3. *Nature* [online]. 18.10., roč. 413, č. 6857, s. 732–8. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/35099560
- ALEXOPOULOU, Lena, Venetta THOMAS, Markus SCHNARE, Yves LOBET, Juan ANGUITA, Robert T. SCHOEN, Ruslan MEDZHITOV, Erol FIKRIG a Richard A. FLAVELL, 2002. Hyporesponsiveness to vaccination with *Borrelia burgdorferi* OspA in humans and in TLR1- and TLR2-deficient mice. *Nature Medicine* [online]. ISSN 10788956. Dostupné z: doi:10.1038/nm732
- AMIR, Ron a Marshall DEVOR, 2003. Electrical excitability of the soma of sensory neurons is required for spike invasion of the soma, but not for through-conduction. *Biophysical journal* [online]. 4., roč. 84, č. 4, s. 2181–2191. ISSN 00063495. Dostupné z: doi:10.1016/S0006-3495(03)75024-3
- BANERJEE, Ashish, Raffi GUGASYAN, Martin MCMAHON a Steve GERONDAKIS, 2006. Diverse Toll-like receptors utilize Tpl2 to activate extracellular signal-regulated kinase (ERK) in hemopoietic cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 28.2., roč. 103, č. 9, s. 3274–3279. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.0511113103
- BARAJON, Isabella, Graziano SERRAO, Francesca ARNABOLDI, Emanuela OPIZZI, Gerlomina RIPAMONTI, Andrea BALSARI a Cristiano RUMIO, 2009. Toll-like receptors 3, 4, and 7 are expressed in the enteric nervous system and dorsal root ganglia. *The journal of histochemistry and cytochemistry: official journal of the Histochemistry Society* [online]. 11., roč. 57, č. 11, s. 1013–23. ISSN 1551-5044. Dostupné z: doi:10.1369/jhc.2009.953539
- BASBAUM, Allan I, Diana M BAUTISTA, Grégory SCHERRER a David JULIUS, 2009. Cellular and Molecular Mechanisms of Pain [Review]. *Cell* [online]. 10., roč. 139, č. 2, s. 267–284. ISSN 00928674. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2009.09.028
- BETTONI, Isabella, Francesca COMELLI, Clara ROSSINI, Francesca GRANUCCI, Gabriella GIAGNONI, Francesco PERI a Barbara COSTA, 2008. Glial TLR4 receptor as new target to treat neuropathic pain: Efficacy of a new receptor antagonist in a model of peripheral nerve injury in mice. *Glia* [online]. roč. 56, č. 12, s. 1312–1319. ISSN 08941491. Dostupné z: doi:10.1002/glia.20699
- BOWMAN, Christal C., Amy RASLEY, Susanne L. TRANGUCH a Ian MARRIOTT, 2003. Cultured astrocytes express toll-like receptors for bacterial products. *Glia* [online]. 9., roč. 43, č. 3, s. 281–291. ISSN 0894-1491. Dostupné z: doi:10.1002/glia.10256
- BSIBSI, Malika, Anita NOMDEN, Johannes M VAN NOORT a Wia BARON, 2012a. Toll-like receptors 2 and 3 agonists differentially affect oligodendrocyte survival, differentiation, and myelin membrane formation. *Journal of neuroscience research* [online]. 2., roč. 90, č. 2, s. 388–98. ISSN 1097-4547. Dostupné z: doi:10.1002/jnr.22767

- BSIBSI, Malika, Anita NOMDEN, Johannes M. VAN NOORT a Wia BARON, 2012b. Toll-like receptors 2 and 3 agonists differentially affect oligodendrocyte survival, differentiation, and myelin membrane formation. *Journal of Neuroscience Research* [online]. roč. 90, č. 2, s. 388–398. ISSN 03604012. Dostupné z: doi:10.1002/jnr.22767
- BSIBSI, Malika, Carla PERSON-DEEN, Ronald W H VERWER, Sonja MEEUWSEN, Rivka RAVID a Johannes M VAN NOORT, 2006. Toll-like receptor 3 on adult human astrocytes triggers production of neuroprotective mediators. *Glia* [online]. 5., roč. 53, č. 7, s. 688–95. ISSN 0894-1491. Dostupné z: doi:10.1002/glia.20328
- BSIBSI, Malika, Rivka RAVID, Djordje GVERIC a Johannes M VAN NOORT, 2002. Broad expression of Toll-like receptors in the human central nervous system. *Journal of neuropathology and experimental neurology* [online]. roč. 61, č. 11, s. 1013–1021. ISSN 0022-3069. Dostupné z: doi:10.1093/jnen/61.11.1013
- BUCHANAN, Madison M., Mark HUTCHINSON, Linda R. WATKINS a Hang YIN, 2010. Toll-like receptor 4 in CNS pathologies [Review]. *Journal of Neurochemistry* [online]. 6.4., roč. 114, č. 1, s. no–no. ISSN 00223042. Dostupné z: doi:10.1111/j.1471-4159.2010.06736.x
- CAO, L, F Y TANGA a J A DELEO, 2009. The contributing role of CD14 in toll-like receptor 4 dependent neuropathic pain. *Neuroscience* [online]. 23.1., roč. 158, č. 2, s. 896–903. ISSN 0306-4522. Dostupné z: doi:10.1016/j.neuroscience.2008.10.004
- CARAMALHO, Iris, Thiago LOPES-CARVALHO, Dominique OSTLER, Santiago ZELENAY, Matthias HAURY a Jocelyne DEMENGEOT, 2003. Regulatory T Cells Selectively Express Toll-like Receptors and Are Activated by Lipopolysaccharide. *The Journal of Experimental Medicine* [online]. 17.2., roč. 197, č. 4, s. 403–411. ISSN 0022-1007. Dostupné z: doi:10.1084/jem.20021633
- CARLTON, Susan M., Shengtai ZHOU a Richard E. COGGESHALL, 1998. Evidence for the interaction of glutamate and NK1 receptors in the periphery. *Brain Research* [online]. 4., roč. 790, č. 1-2, s. 160–169. ISSN 00068993. Dostupné z: doi:10.1016/S0006-8993(97)01471-6
- CARPENTIER, Pamela A, Wendy Smith BEGOLKA, Julie K OLSON, Adam ELHOFY, William J KARPUS a Stephen D MILLER, 2005. Differential activation of astrocytes by innate and adaptive immune stimuli. *Glia* [online]. 2., roč. 49, č. 3, s. 360–74. ISSN 0894-1491. Dostupné z: doi:10.1002/glia.20117
- CARR, Richard W., Ruth SITTL, Johannes FLECKENSTEIN a Peter GRAFE, 2010. GABA Increases Electrical Excitability in a Subset of Human Unmyelinated Peripheral Axons. *PLoS ONE* [online]. 20.1., roč. 5, č. 1, s. e8780. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0008780
- CASSIANI-INGONI, Riccardo, Erik S CABRAL, Jan D LÜNEMANN, Zoila GARZA, Tim MAGNUS, Harald GELDERBLOM, Peter J MUNSON, Adriana MARQUES a Roland MARTIN, 2006. *Borrelia burgdorferi* Induces TLR1 and TLR2 in Human Microglia and Peripheral Blood Monocytes but Differentially Regulates HLA-Class II Expression. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology* [online]. 6., roč. 65, č. 6, s. 540–548. ISSN 0022-3069. Dostupné z: doi:10.1097/00005072-200606000-00002
- CATERINA, M J, M a SCHUMACHER, M TOMINAGA, T a ROSEN, J D LEVINE a D JULIUS, 1997. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature* [online]. roč. 389, č. 6653, s. 816–824. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/39807



- CAVANAUGH, Daniel J, Hyosang LEE, Liching LO, Shannon D SHIELDS, Mark J ZYLKA, Allan I BASBAUM a David J ANDERSON, 2009. Distinct subsets of unmyelinated primary sensory fibers mediate behavioral responses to noxious thermal and mechanical stimuli. *Proc Natl Acad Sci U S A* [online]. 2.6., roč. 106, č. 22, s. 9075–9080. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.0901507106
- COLOMAR, Aurore, Vincent MARTY, Chantal MÉDINA, Chantal COMBE, Patricia PARNET a Thierry AMÉDÉE, 2003. Maturation and release of interleukin-1beta by lipopolysaccharide-primed mouse Schwann cells require the stimulation of P2X7 receptors. *The Journal of biological chemistry* [online]. 15.8., roč. 278, č. 33, s. 30732–40. ISSN 0021-9258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M304534200
- DIOGENES, A, C C R FERRAZ, A N AKOPIAN, M A HENRY a K M HARGREAVES, 2011. LPS sensitizes TRPV1 via activation of TLR4 in trigeminal sensory neurons. *Journal of dental research* [online]. 6., roč. 90, č. 6, s. 759–64. ISSN 1544-0591. Dostupné z: doi:10.1177/0022034511400225
- DUBIN, Adrienne E. a Ardem PATAPOUTIAN, 2010. Nociceptors: The sensors of the pain pathway [Review]. *Journal of Clinical Investigation* [online]. 1.11., roč. 120, č. 11, s. 3760–3772. ISSN 00219738. Dostupné z: doi:10.1172/JCI42843
- DURIEZ, Marion, Hã©loÃse QUILLAY, Yoann MADEC, Hicham EL COSTA, Claude CANNOU, Romain MARLIN, Claire DE TRUCHIS, Mona RAHMATI, FranÃoise BARRÃ©-SINOUSSE, Marie-ThÃ©rÃse NUGEYRE a Elisabeth MENU, 2014. Human decidual macrophages and NK cells differentially express Toll-like receptors and display distinct cytokine profiles upon TLR stimulation. *Frontiers in Microbiology* [online]. roč. 5, č. JULY, s. 1–14. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2014.00316
- EL-HAGE, Nazira, Elizabeth M PODHAIZER, Jamie STURGILL a Kurt F HAUSER, 2011. Toll-like receptor expression and activation in astroglia: differential regulation by HIV-1 Tat, gp120, and morphine. *Immunological investigations* [online]. roč. 40, č. 5, s. 498–522. ISSN 1532-4311. Dostupné z: doi:10.3109/08820139.2011.561904
- ERIKSSON, Mikael, Sarah K MEADOWS, Satarupa BASU, Teddy F MSELLE, Charles R WIRA a Charles L SENTMAN, 2006. TLRs mediate IFN-gamma production by human uterine NK cells in endometrium. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* [online]. 15.5., roč. 176, č. 10, s. 6219–6224. ISSN 0022-1767. Dostupné z: doi:10.1093/infdis/jii176
- GAO, Y.-J., L. ZHANG, O. A. SAMAD, M. R. SUTER, K. YASUHIKO, Z.-Z. XU, J.-Y. PARK, A.-L. LIND, Q. MA a R.-R. JI, 2009. JNK-Induced MCP-1 Production in Spinal Cord Astrocytes Contributes to Central Sensitization and Neuropathic Pain. *Journal of Neuroscience* [online]. 1.4., roč. 29, č. 13, s. 4096–4108. ISSN 0270-6474. Dostupné z: doi:10.1523/JNEUROSCI.3623-08.2009
- GIBSON III, FRANK, C., T UKAI a Caroline A. GENCO, 2008. Engagement of specific innate immune signaling pathways during *Porphyromonas gingivalis* induced chronic inflammation and atherosclerosis [Review]. *Frontiers in Bioscience* [online]. roč. 13, č. 13, s. 2041. ISSN 10939946. Dostupné z: doi:10.2741/2822
- GLEZER, Isaias, 2006. Innate immunity triggers oligodendrocyte progenitor reactivity and confines damages to brain injuries. *The FASEB Journal* [online]. 1.2., roč. 20, č. 4, s. 750–752. ISSN 0892-6638. Dostupné z: doi:10.1096/fj.05-5234fje

- GODFROY, James I, Mohammad ROOSTAN, Yurii S MOROZ, Ivan V KORENDOVYCH a Hang YIN, 2012. Isolated Toll-like Receptor Transmembrane Domains Are Capable of Oligomerization. *PLoS ONE* [online]. San Francisco, USA: Public Library of Science, 14.11., roč. 7, č. 11, s. e48875. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0048875
- GOETHALS, Sofie, Elke YDENS, Vincent TIMMERMAN a Sophie JANSSENS, 2010. Toll-like receptor expression in the peripheral nerve. *Glia* [online]. roč. 58, č. 14, s. 1701–1709. ISSN 08941491. Dostupné z: doi:10.1002/glia.21041
- GOODSELL, D.S., 2011. Toll-like Receptors. *RCSB Protein Data Bank* [online]. Dostupné z: doi:10.2210/rcsb\_pdb/mom\_2011\_11
- HÄCKER, Hans, Vanessa REDECKE, Blagoy BLAGOEV, Irina KRATCHMAROVA, Li-Chung HSU, Gang G WANG, Mark P KAMPS, Eyal RAZ, Hermann WAGNER, Georg HÄCKER, Matthias MANN a Michael KARIN, 2006. Specificity in Toll-like receptor signalling through distinct effector functions of TRAF3 and TRAF6. *Nature* [online]. 12.1., roč. 439, č. 7073, s. 204–7. ISSN 1476-4687. Dostupné z: doi:10.1038/nature04369
- HAO, Hsiao Nan, Jean D. PEDUZZI-NELSON, Pamela J. VANDEVORD, Kaveh BARAMI, Stephen P. DESILVA, Dalip PELINKOVIC a Lawrence G. MORAWA, 2009. Lipopolysaccharide-induced inflammatory cytokine production by Schwann's cells dependent upon TLR4 expression. *Journal of Neuroimmunology* [online]. B.m.: Elsevier B.V., roč. 212, č. 1-2, s. 26–34. ISSN 01655728. Dostupné z: doi:10.1016/j.jneuroim.2009.04.020
- HAYASHI, Fumitaka, Kelly D. SMITH, Adrian OZINSKY, Thomas R. HAWN, Eugene C. YI, David R. GOODLETT, Jimmy K. ENG, Shizuo AKIRA, David M. UNDERHILL a Alan ADEREM, 2001. The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by Toll-like receptor 5. *Nature* [online]. 26.4., roč. 410, č. 6832, s. 1099–103. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/35074106
- HEINRICHER, M. M., I. TAVARES, J. L. LEITH a B. M. LUMB, 2009. Descending control of nociception: Specificity, recruitment and plasticity. *Brain Research Reviews* [online]. roč. 60, č. 1, s. 214–225. ISSN 01650173. Dostupné z: doi:10.1016/j.brainresrev.2008.12.009
- HOSHINO, Katsuaki, Osamu TAKEUCHI, Taro KAWAI, H SANJO, Tomohiko OGAWA, Yoshifumi TAKEDA, K TAKEDA a Shizuo AKIRA, 1999. Cutting edge: Toll-like receptor 4 (TLR4)-deficient mice are hyporesponsive to lipopolysaccharide: evidence for TLR4 as the Lps gene product. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. 1.4., roč. 162, č. 7, s. 3749–52. ISSN 0022-1767.
- HUSEBYE, Harald, Øyvind HALAAS, Harald STENMARK, Gro TUNHEIM, Øystein SANDANGER, Bjarne BOGEN, Andreas BRECH, Eicke LATZ a Terje ESPEVIK, 2006. Endocytic pathways regulate Toll-like receptor 4 signaling and link innate and adaptive immunity. *The EMBO journal* [online]. roč. 25, č. 4, s. 683–92. ISSN 0261-4189. Dostupné z: doi:10.1038/sj.emboj.7600991
- HUTCHINSON, M.R., L.C. LORAM, Y. ZHANG, M. SHRIDHAR, N. REZVANI, D. BERKELHAMMER, S. PHIPPS, P.S. FOSTER, K. LANDGRAF, J.J. FALKE, K.C. RICE, S.F. MAIER, H. YIN a L.R. WATKINS, 2010. Evidence that tricyclic small molecules may possess toll-like receptor and myeloid differentiation protein 2 activity. *Neuroscience* [online]. B.m.: Elsevier Inc., 6., roč. 168, č. 2, s. 551–563. ISSN 03064522. Dostupné z: doi:10.1016/j.neuroscience.2010.03.067

- HUTCHINSON, Mark R, Yingning ZHANG, Kimberley BROWN, Benjamin D COATS, Mitesh SHRIDHAR, Paige W SHOLAR, Sonica J PATEL, Nicole Y CRYSDALE, Jacqueline A. HARRISON, Steven F MAIER, Kenner C RICE a Linda R WATKINS, 2008. Non-stereoselective reversal of neuropathic pain by naloxone and naltrexone: involvement of toll-like receptor 4 (TLR4). *European Journal of Neuroscience* [online]. roč. 28, č. 1, s. 20–29. ISSN 0953816X. Dostupné z: doi:10.1111/j.1460-9568.2008.06321.x
- IASP, 2012. IASP: taxonomy. *International Association for the Study of Pain* [online] [vid. 2. květen 2016]. Dostupné z: <http://www.iasp-pain.org/Taxonomy>
- JACK, Carolyn S, Nathalie ARBOUR, Joshua MANUSOW, Vivianne MONTGRAIN, Manon BLAIN, Ellie MCCREA, Aaron SHAPIRO a Jack P ANTEL, 2005. TLR signaling tailors innate immune responses in human microglia and astrocytes. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* [online]. 1.10., roč. 175, č. 7, s. 4320–30. ISSN 0022-1767. Dostupné z: doi:10.4049/jimmunol.175.7.4320
- JANSSENS, S a R BEYAERT, 2003. Role of Toll-Like Receptors in Pathogen Recognition [Review]. *Clinical Microbiology Reviews* [online]. 1.10., roč. 16, č. 4, s. 637–646. ISSN 0893-8512. Dostupné z: doi:10.1128/CMR.16.4.637-646.2003
- JULIUS, David a Allan I. BASBAUM, 2001. Molecular mechanisms of nociception [Review]. *Nature* [online]. 13.9., roč. 413, č. 6852, s. 203–210. ISSN 00280836. Dostupné z: doi:10.1038/35093019
- JUNG, Dae Young, Heasuk LEE, Bo-Young JUNG, Jiyeon OCK, Myung-Shik LEE, Won-Ha LEE a Kyoungho SUK, 2005. TLR4, but not TLR2, signals autoregulatory apoptosis of cultured microglia: a critical role of IFN-beta as a decision maker. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* [online]. 15.5., roč. 174, č. 10, s. 6467–6476. ISSN 0022-1767. Dostupné z: doi:10.4049/jimmunol.174.10.6467
- JURGA, Agnieszka M., Ewelina ROJEWSKA, Anna PIOTROWSKA, Wioletta MAKUCH, Dominika PILAT, Barbara PRZEWLOCKA a Joanna MIKA, 2016. Blockade of Toll-Like Receptors (TLR2, TLR4) Attenuates Pain and Potentiates Buprenorphine Analgesia in a Rat Neuropathic Pain Model. *Neural Plasticity* [online]. B.m.: Hindawi Publishing Corporation, roč. 2016, s. 1–12. ISSN 2090-5904. Dostupné z: doi:10.1155/2016/5238730
- KAGAN, Jonathan C, Tian SU, Tiffany HORNG, Amy CHOW, Shizuo AKIRA a Ruslan MEDZHITOV, 2008. TRAM couples endocytosis of Toll-like receptor 4 to the induction of interferon- $\beta$ . *Nature Immunology* [online]. 24.4., roč. 9, č. 4, s. 361–368. ISSN 1529-2908. Dostupné z: doi:10.1038/ni1569
- KAGAN, Jonathan C. a Ruslan MEDZHITOV, 2006. Phosphoinositide-Mediated Adaptor Recruitment Controls Toll-like Receptor Signaling. *Cell* [online]. 6., roč. 125, č. 5, s. 943–955. ISSN 00928674. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2006.03.047
- KARANTH, S, G YANG, J YEH a P M RICHARDSON, 2006. Nature of signals that initiate the immune response during Wallerian degeneration of peripheral nerves. *Experimental neurology* [online]. 11., roč. 202, č. 1, s. 161–6. ISSN 0014-4886. Dostupné z: doi:10.1016/j.expneurol.2006.05.024
- KATSUYAMA, Soh, Hirokazu MIZOGUCHI, Takaaki KOMATSU, Chikai SAKURADA, Minoru TSUZUKI, Shinobu SAKURADA a Tsukasa SAKURADA, 2011. Antinociceptive effects of spinally administered nociceptin/orphanin FQ and its N-terminal fragments on capsaicin-induced nociception. *Peptides* [online]. roč. 32, č. 7, s. 1530–5. ISSN 1873-5169. Dostupné z: doi:10.1016/j.peptides.2011.05.028

- KAWAI, Taro a Shizuo AKIRA, 2007. Signaling to NF-kappaB by Toll-like receptors. *Trends in molecular medicine* [online]. 11., roč. 13, č. 11, s. 460–9. ISSN 1471-4914. Dostupné z: doi:10.1016/j.molmed.2007.09.002
- KIELIAN, Tammy, Nilufer ESEN a Edward D BEARDEN, 2005. Toll-like receptor 2 (TLR2) is pivotal for recognition of *S. aureus* peptidoglycan but not intact bacteria by microglia. *Glia* [online]. 3., roč. 49, č. 4, s. 567–76. ISSN 0894-1491. Dostupné z: doi:10.1002/glia.20144
- KIGERL, Kristina A., Wenmin LAI, Serge RIVEST, Ronald P. HART, Abhay R. SATOSKAR a Phillip G. POPOVICH, 2007. Toll-like receptor (TLR)-2 and TLR-4 regulate inflammation, gliosis, and myelin sparing after spinal cord injury. *Journal of Neurochemistry* [online]. roč. 102, č. 1, s. 37–50. ISSN 0022-3042. Dostupné z: doi:10.1111/j.1471-4159.2007.04524.x
- KOBAYASHI, M., S.-i. SAITOH, N. TANIMURA, K. TAKAHASHI, K. KAWASAKI, M. NISHIJIMA, Y. FUJIMOTO, K. FUKASE, S. AKASHI-TAKAMURA a K. MIYAKE, 2006. Regulatory Roles for MD-2 and TLR4 in Ligand-Induced Receptor Clustering. *The Journal of Immunology* [online]. roč. 176, č. 10, s. 6211–6218. ISSN 0022-1767. Dostupné z: doi:10.4049/jimmunol.176.10.6211
- LAWSON, S N, 2002. Phenotype and function of somatic primary afferent nociceptive neurones with C-, Aδ- or Aα/β-fibres. *Experimental physiology* [online]. roč. 87, č. 2, s. 239–244. ISSN 0958-0670. Dostupné z: doi:EPH\_2350 [pii]
- LEE, Hyunkyung, Soojin LEE, Ik-Hyun CHO a Sung Joong LEE, 2013. Toll-like receptors: sensor molecules for detecting damage to the nervous system. [Review]. *Current protein & peptide science* [online]. roč. 14, č. 1, s. 33–42. ISSN 1875-5550. Dostupné z: doi:CUPS-EPUB-20130218-8 [pii]
- LEE, Hyunkyung, Chanhee PARK, Ik-Hyun CHO, Hyun Yeong KIM, Eun-Kyeong JO, Soojin LEE, Hong-Seop KHO, Se-Young CHOI, Seog Bae OH, Kyungpyo PARK, Joong Soo KIM a Sung Joong LEE, 2007. Double-stranded RNA induces iNOS gene expression in Schwann cells, sensory neuronal death, and peripheral nerve demyelination. *Glia* [online]. 5., roč. 55, č. 7, s. 712–22. ISSN 0894-1491. Dostupné z: doi:10.1002/glia.20493
- LEE, Joo Y., Kyung H. SOHN, Sang H. RHEE a Daniel HWANG, 2001. Saturated Fatty Acids, but Not Unsaturated Fatty Acids, Induce the Expression of Cyclooxygenase-2 Mediated through Toll-like Receptor 4. *Journal of Biological Chemistry* [online]. roč. 276, č. 20, s. 16683–16689. ISSN 00219258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M011695200
- LEE, Sung Joong a Soojin LEE, 2002. Toll-like receptors and inflammation in the CNS. *Current drug targets. Inflammation and allergy*. 6., roč. 1, č. 2, s. 181–91. ISSN 1568-010X.
- LEFFLER, Andreas, Ramona Madalina LINTE, Carla NAU, Peter REEH a Alexandru BABES, 2007. A high-threshold heat-activated channel in cultured rat dorsal root ganglion neurons resembles TRPV2 and is blocked by gadolinium. *European Journal of Neuroscience* [online]. 26.6., roč. 26, č. 1, s. 12–22. ISSN 0953816X. Dostupné z: doi:10.1111/j.1460-9568.2007.05643.x
- LEHNARDT, Seija, Philipp HENNEKE, Egil LIEN, Dennis L KASPER, Joseph J VOLPE, Ingo BECHMANN, Robert NITSCH, Joerg R WEBER, Douglas T GOLENBOCK a Timothy VARTANIAN, 2006. A mechanism for neurodegeneration induced by group B streptococci through activation of the TLR2/MyD88 pathway in microglia. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. roč. 177, č. 1, s. 583–92. ISSN 0022-1767.

- LEHNARDT, Seija, Christian LACHANCE, Silvia PATRIZI, Sharon LEFEBVRE, Pamela L. FOLLETT, Frances E. JENSEN, Paul A. ROSENBERG, Joseph J. VOLPE a Timothy VARTANIAN, 2002. The Toll-Like Receptor TLR4 Is Necessary for Lipopolysaccharide-Induced Oligodendrocyte Injury in the CNS. *J. Neurosci.* [online]. roč. 22, č. 7, s. 2478–2486. ISSN 1529-2401. Dostupné z: doi:20026268
- LEHNARDT, Seija, Sabrina LEHMANN, David KAUL, Katharina TSCHIMMEL, Olaf HOFFMANN, Sabine CHO, Christina KRUEGER, Robert NITSCH, Andreas MEISEL a Joerg R WEBER, 2007. Toll-like receptor 2 mediates CNS injury in focal cerebral ischemia. *Journal of neuroimmunology* [online]. 10., roč. 190, č. 1-2, s. 28–33. ISSN 0165-5728. Dostupné z: doi:10.1016/j.jneuroim.2007.07.023
- LI, Jing, Adam CSAKAI, Jialin JIN, Fengchun ZHANG a Hang YIN, 2016. Therapeutic Developments Targeting Toll-like Receptor-4-Mediated Neuroinflammation [Review]. *ChemMedChem* [online]. 1., roč. 11, č. 2, s. 154–165. ISSN 18607179. Dostupné z: doi:10.1002/cmdc.201500188
- LI, Y., P. ADAMEK, H. ZHANG, C. E. TATSUI, L. D. RHINES, P. MROZKOVA, Q. LI, a. K. KOSTURAKIS, R. M. CASSIDY, D. S. HARRISON, J. P. CATA, K. SAPIRE, H. ZHANG, R. M. KENNAMER-CHAPMAN, a. B. JAWAD, a. GHETTI, J. YAN, J. PALECEK a P. M. DOUGHERTY, 2015. The Cancer Chemotherapeutic Paclitaxel Increases Human and Rodent Sensory Neuron Responses to TRPV1 by Activation of TLR4. *Journal of Neuroscience* [online]. roč. 35, č. 39, s. 13487–13500. ISSN 0270-6474. Dostupné z: doi:10.1523/JNEUROSCI.1956-15.2015
- LIN, Jia-Ji, Yi DU, Wen-Ke CAI, Rong KUANG, Ting CHANG, Zhuo ZHANG, Yong-Xiang YANG, Chao SUN, Zhu-Yi LI a Fang KUANG, 2015. Toll-like receptor 4 signaling in neurons of trigeminal ganglion contributes to nociception induced by acute pulpitis in rats. *Scientific reports* [online]. roč. 5, č. January, s. 12549. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/srep12549
- LIU, B., L. DU, L.-Y KONG, P.M HUDSON, B.C WILSON, R.C CHANG, H.H ABEL a J.-S HONG, 2000. Reduction by naloxone of lipopolysaccharide-induced neurotoxicity in mouse cortical neuron–glia co-cultures. *Neuroscience* [online]. 5., roč. 97, č. 4, s. 749–756. ISSN 03064522. Dostupné z: doi:10.1016/S0306-4522(00)00057-9
- LIU, Tong, Yong-Jing GAO a Ru-Rong JI, 2012. Emerging role of Toll-like receptors in the control of pain and itch [Review]. *Neuroscience Bulletin* [online]. 29.4., roč. 28, č. 2, s. 131–144. ISSN 1673-7067. Dostupné z: doi:10.1007/s12264-012-1219-5
- M'DAHOMA, Saïd, Sylvie BOURGOIN, Valérie KAYSER, Sandrine BARTHÉLÉMY, Caroline CHEVARIN, Farah CHALI, Didier ORSAL a Michel HAMON, 2014. Spinal cord transection-induced allodynia in rats--behavioral, physiopathological and pharmacological characterization. *PloS one* [online]. roč. 9, č. 7, s. e102027. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0102027
- MEERSCHAERT, JoAnn, William W. BUSSE, Paul J. BERTICS a Deane F. MOSHER, 2000. CD14 + Cells Are Necessary for Increased Survival of Eosinophils in Response to Lipopolysaccharide. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* [online]. 12., roč. 23, č. 6, s. 780–787. ISSN 1044-1549. Dostupné z: doi:10.1165/ajrcmb.23.6.4171
- MELLER, S T, C. DYKSTRA, D. GRZYBYCKI, S. MURPHY a G F GEBHART, 1994. The possible role of glia in nociceptive processing and hyperalgesia in the spinal cord of the rat. *Neuropharmacology* [online]. 11., roč. 33, č. 11, s. 1471–8. ISSN 0028-3908. Dostupné z: doi:10.1016/0028-3908(94)90051-5

- MCHUGH, J M a W B MCHUGH, 2000. Pain: neuroanatomy, chemical mediators, and clinical implications [Review]. *AACN clinical issues*. 5., roč. 11, č. 2, s. 168–78. ISSN 1079-0713.
- MILLAN, Mark J., 1999. The induction of pain: An integrative review [Review]. *Progress in Neurobiology* [online]. 1., roč. 57, č. 1, s. 1–164. ISSN 03010082. Dostupné z: doi:10.1016/S0301-0082(98)00048-3
- MISHRA, Bibhuti B, Uma Mahesh GUNDRA a Judy M TEALE, 2008. Expression and distribution of Toll-like receptors 11-13 in the brain during murine neurocysticercosis. *Journal of neuroinflammation* [online]. roč. 5, s. 53. ISSN 1742-2094. Dostupné z: doi:10.1186/1742-2094-5-53
- MISHRA, Bibhuti B, Pramod K MISHRA a Judy M TEALE, 2006. Expression and distribution of Toll-like receptors in the brain during murine neurocysticercosis. *Journal of neuroimmunology* [online]. 12., roč. 181, č. 1-2, s. 46–56. ISSN 0165-5728. Dostupné z: doi:10.1016/j.jneuroim.2006.07.019
- MORALES-LÁZARO, Sara L a Tamara ROSENBAUM, 2015. A painful link between the TRPV1 channel and lysophosphatidic acid. *Life Sciences* [online]. B.m.: Elsevier Inc., 15.3., roč. 125, s. 15–24. ISSN 00243205. Dostupné z: doi:10.1016/j.lfs.2014.10.004
- NAGAI, Yoshinori, Sachiko AKASHI, Masakazu NAGAFUKU, Masato OGATA, Yoichiro IWAKURA, Shizuo AKIRA, Toshio KITAMURA, Atsushi KOSUGI, Masao KIMOTO a Kensuke MIYAKE, 2002. Essential role of MD-2 in LPS responsiveness and TLR4 distribution. *Nature Immunology* [online]. 10.6., roč. 3, č. 7, s. 667–672. ISSN 15292908. Dostupné z: doi:10.1038/ni809
- NCBI, 2016. TLR4 toll like receptor 4 [Homo sapiens (human)]. *National Center for Biotechnology Information* [online] [vid. 10. duben 2016]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/7099>
- NICOTRA, Lauren, Lisa C. LORAM, Linda R WATKINS a Mark R HUTCHINSON, 2012. Toll-like receptors in chronic pain [Review]. *Experimental Neurology* [online]. 4., roč. 234, č. 2, s. 316–329. ISSN 00144886. Dostupné z: doi:10.1016/j.expneurol.2011.09.038
- NILSEN, Nadra J., Gregory I. VLADIMER, Jørgen STENVIK, M. Pontus A ORNING, Maria V. ZEID-KILANI, Marit BUGGE, Bjarte BERGSTROEM, Joseph CONLON, Harald HUSEBYE, Amy G. HISE, Katherine A. FITZGERALD, Terje ESPEVIK a Egil LIEN, 2015. A Role for the Adaptor Proteins TRAM and TRIF in Toll-like Receptor 2 Signaling. *Journal of Biological Chemistry* [online]. 6.2., roč. 290, č. 6, s. 3209–3222. ISSN 0021-9258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M114.593426
- NOGALES, Eva, S G WOLF, Israr A KHAN, R F LUDUEÑA a Kenneth H DOWNING, 1995. Structure of tubulin at 6.5 Å and location of the taxol-binding site. *Nature* [online]. 1.6., roč. 375, č. 6530, s. 424–7. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/375424a0
- OGATA, Hirotaka, I-hsin SU, Kensuke MIYAKE, Yoshinori NAGAI, Sachiko AKASHI, Ingrid MECKLENBRÄUKER, Klaus RAJEWSKY, Masao KIMOTO a Alexander TARAKHOVSKY, 2000. The Toll-like Receptor Protein Rp105 Regulates Lipopolysaccharide Signaling in B Cells. *The Journal of Experimental Medicine* [online]. roč. 192, č. 1, s. 23–30. ISSN 0022-1007. Dostupné z: doi:10.1084/jem.192.1.23
- OHTO, Umeharu, Kensuke MIYAKE a Toshiyuki SHIMIZU, 2011. Crystal Structures of Mouse and Human RP105/MD-1 Complexes Reveal Unique Dimer Organization of the Toll-Like Receptor Family. *Journal of Molecular Biology* [online]. B.m.: Elsevier Ltd, 11., roč. 413, č. 4, s. 815–825. ISSN 00222836. Dostupné z: doi:10.1016/j.jmb.2011.09.020

- OCHOA-CORTES, Fernando, Telma RAMOS-LOMAS, Marcela MIRANDA-MORALES, Ian SPREADBURY, Charles IBEAKANMA, Carlos BARAJAS-LOPEZ a Stephen VANNER, 2010. Bacterial cell products signal to mouse colonic nociceptive dorsal root ganglia neurons. *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology* [online]. roč. 299, č. 3, s. G723–32. ISSN 1522-1547. Dostupné z: doi:10.1152/ajpgi.00494.2009
- OKUN, Eitan, Kathleen J. GRIFFIOEN, Justin D. LATHIA, Sung-Chun TANG, Mark P. MATTSON a Thiruma V. ARUMUGAM, 2009. Toll-like receptors in neurodegeneration [Review]. *Brain Research Reviews* [online]. 3., roč. 59, č. 2, s. 278–292. ISSN 01650173. Dostupné z: doi:10.1016/j.brainresrev.2008.09.001
- OKUN, Eitan, Kathleen J. GRIFFIOEN a Mark P. MATTSON, 2011. Toll-like receptor signaling in neural plasticity and disease [Review]. *Trends in Neurosciences* [online]. 5., roč. 34, č. 5, s. 269–281. ISSN 01662236. Dostupné z: doi:10.1016/j.tins.2011.02.005
- OLIVEIRA, R. B., M. T. OCHOA, P. A. SIELING, T. H. REA, A. RAMBUKKANA, E. N. SARNO a R. L. MODLIN, 2003a. Expression of Toll-Like Receptor 2 on Human Schwann Cells: a Mechanism of Nerve Damage in Leprosy. *Infection and Immunity* [online]. 1.3., roč. 71, č. 3, s. 1427–1433. ISSN 0019-9567. Dostupné z: doi:10.1128/IAI.71.3.1427-1433.2003
- OLIVEIRA, Rosane B, Maria T OCHOA, Peter A SIELING, Thomas H REA, Anura RAMBUKKANA, Euzenir N SARNO a Robert L MODLIN, 2003b. Expression of Toll-like receptor 2 on human Schwann cells: a mechanism of nerve damage in leprosy. *Infection and immunity*. 3., roč. 71, č. 3, s. 1427–33. ISSN 0019-9567.
- OLSON, Julie K a Stephen D MILLER, 2004. Microglia initiate central nervous system innate and adaptive immune responses through multiple TLRs. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. 15.9., roč. 173, č. 6, s. 3916–24. ISSN 0022-1767.
- OOSTING, Marije, Shih-Chin CHENG, Judith M BOLSCHER, Rachel VESTERING-STENGER, Theo S PLANTINGA, Ineke C VERSCHUEREN, Peer ARTS, Anja GARRITSEN, Hans VAN EENENNAAM, Patrick STURM, Bart-Jan KULLBERG, Alexander HOISCHEN, Gosse J ADEMA, Jos W M VAN DER MEER, Mihai G NETEA a Leo A B JOOSTEN, 2014. Human TLR10 is an anti-inflammatory pattern-recognition receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 21.10., roč. 111, č. 42, s. E4478–E4484. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.1410293111
- OSSIPOV, Michael H, Kozo MORIMURA a Frank PORRECA, 2014. Descending pain modulation and chronification of pain. [Review]. *Current opinion in supportive and palliative care* [online]. roč. 8, č. 2, s. 143–51. ISSN 1751-4266. Dostupné z: doi:10.1097/SPC.0000000000000055
- PAN, Zhizhong Z., Naomi HIRAKAWA a Howard L FIELDS, 2000. A Cellular Mechanism for the Bidirectional Pain-Modulating Actions of Orphanin FQ/Nociceptin. *Neuron* [online]. 5., roč. 26, č. 2, s. 515–522. ISSN 08966273. Dostupné z: doi:10.1016/S0896-6273(00)81183-6
- PARK, Beom Seok, Dong Hyun SONG, Ho Min KIM, Byong-Seok CHOI, Hayyoung LEE a Jie-Oh LEE, 2009. The structural basis of lipopolysaccharide recognition by the TLR4–MD-2 complex. *Nature* [online]. 30.4., roč. 458, č. 7242, s. 1191–1195. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/nature07830

- PARK, Chanhee, Soojin LEE, Ik-Hyun CHO, Hyun Kyoung LEE, Donghoon KIM, Se-Young CHOI, Seog Bae OH, Kyungpyo PARK, Joong Soo KIM a Sung Joong LEE, 2006. TLR3-mediated signal induces proinflammatory cytokine and chemokine gene expression in astrocytes: differential signaling mechanisms of TLR3-induced IP-10 and IL-8 gene expression. *Glia* [online]. 2., roč. 53, č. 3, s. 248–56. ISSN 0894-1491. Dostupné z: doi:10.1002/glia.20278
- PERI, Francesco, Matteo PIAZZA, Valentina CALABRESE, Gaetana DAMORE a Roberto CIGHETTI, 2010. Exploring the LPS/TLR4 signal pathway with small molecules [Review]. *Biochemical Society Transactions* [online]. 1.10., roč. 38, č. 5, s. 1390–1395. ISSN 0300-5127. Dostupné z: doi:10.1042/BST0381390
- PETTERSSON, Lina M E, Frank SUNDLER a Nils DANIELSEN, 2002. Expression of orphanin FQ/nociceptin and its receptor in rat peripheral ganglia and spinal cord. *Brain research*. 2.8., roč. 945, č. 2, s. 266–75. ISSN 0006-8993.
- PLOTZ, S. G., 2001. The interaction of human peripheral blood eosinophils with bacterial lipopolysaccharide is CD14 dependent. *Blood* [online]. 1.1., roč. 97, č. 1, s. 235–241. ISSN 00064971. Dostupné z: doi:10.1182/blood.V97.1.235
- POLTORAK, Alexander, 1998. Defective LPS Signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr Mice: Mutations in Tlr4 Gene. *Science* [online]. 11.12., roč. 282, č. 5396, s. 2085–2088. Dostupné z: doi:10.1126/science.282.5396.2085
- PRÉHAUD, Christophe, Françoise MÉGRET, Mireille LAFAGE a Monique LAFON, 2005. Virus infection switches TLR-3-positive human neurons to become strong producers of beta interferon. *Journal of virology* [online]. 10., roč. 79, č. 20, s. 12893–904. ISSN 0022-538X. Dostupné z: doi:10.1128/JVI.79.20.12893-12904.2005
- QI, Jia, Krisztina BUZAS, Huiting FAN, Jeffrey I COHEN, Kening WANG, Erik MONT, Dennis KLINMAN, Joost J OPPENHEIM a O M Zack HOWARD, 2011a. Painful Pathways Induced by TLR Stimulation of Dorsal Root Ganglion Neurons. *The Journal of Immunology* [online]. 1.6., roč. 186, č. 11, s. 6417–6426. ISSN 0022-1767. Dostupné z: doi:10.4049/jimmunol.1001241
- QI, Jia, Krisztina BUZAS, Huiting FAN, Jeffrey I COHEN, Kening WANG, Erik MONT, Dennis KLINMAN, Joost J OPPENHEIM a O M Zack HOWARD, 2011b. Painful pathways induced by TLR stimulation of dorsal root ganglion neurons. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* [online]. 1.6., roč. 186, č. 11, s. 6417–26. ISSN 1550-6606. Dostupné z: doi:10.4049/jimmunol.1001241
- REXED, Bror, 1952. The cytoarchitectonic organization of the spinal cord in the cat. *The Journal of Comparative Neurology* [online]. 6., roč. 96, č. 3, s. 415–495. ISSN 0021-9967. Dostupné z: doi:10.1002/cne.900960303
- REYNOLDS, Joseph M., Bhanu P. PAPPU, Juan PENG, Gustavo J. MARTINEZ, Yongliang ZHANG, Yeonseok CHUNG, Li MA, Xuexian O. YANG, Roza I. NURIEVA, Qiang TIAN a Chen DONG, 2010. Toll-like receptor 2 signaling in CD4(+) T lymphocytes promotes T helper 17 responses and regulates the pathogenesis of autoimmune disease. *Immunity* [online]. B.m.: Elsevier Ltd, 28.5., roč. 32, č. 5, s. 692–702. ISSN 1097-4180. Dostupné z: doi:10.1016/j.immuni.2010.04.010
- ROLLS, Asya, Ravid SHECHTER, Anat LONDON, Yaniv ZIV, Ayal RONEN, Rinat LEVY a Michal SCHWARTZ, 2007. Toll-like receptors modulate adult hippocampal neurogenesis. *Nature cell biology* [online]. 9., roč. 9, č. 9, s. 1081–8. ISSN 1465-7392. Dostupné z: doi:10.1038/ncb1629



- SABROE, Ian, Elizabeth C JONES, Lynne R USHER, Moira K B WHYTE a Steven K DOWER, 2002. Toll-like receptor (TLR)2 and TLR4 in human peripheral blood granulocytes: a critical role for monocytes in leukocyte lipopolysaccharide responses. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* [online]. roč. 168, č. 9, s. 4701–4710. ISSN 0022-1767. Dostupné z: doi:10.4049/jimmunol.168.9.4701
- SAITO, O., CI SVENSSON, MW BUCZYNSKI, K. WEGNER, X-Y HUA, S. CODELUPPI, RH SCHALOSKE, RA DEEMS, EA DENNIS a TL YAKSH, 2010. Spinal glial TLR4-mediated nociception and production of prostaglandin E2 and TNF. *British Journal of Pharmacology* [online]. 8., roč. 160, č. 7, s. 1754–1764. ISSN 00071188. Dostupné z: doi:10.1111/j.1476-5381.2010.00811.x
- SHERRINGTON, C. S., 1903. Qualitative difference of spinal reflex corresponding with qualitative difference of cutaneous stimulus. *The Journal of Physiology* [online]. 24.8., roč. 30, č. 1, s. 39–46. ISSN 00223751. Dostupné z: doi:10.1113/jphysiol.1903.sp000980
- SHERRINGTON, C. S., 1906. The Integrative Action of the Nervous System. *New Haven: Yale University Press*. roč. 10, s. 227–230.
- SHIMAZU, R, S AKASHI, H OGATA, Y NAGAI, K FUKUDOME, K MIYAKE a M KIMOTO, 1999. MD-2, a molecule that confers lipopolysaccharide responsiveness on Toll-like receptor 4. *The Journal of experimental medicine* [online]. roč. 189, č. 11, s. 1777–82. ISSN 0022-1007. Dostupné z: doi:10.1084/jem.189.11.1777
- SLOANE, J A, C BATT, Y MA, Z M HARRIS, B TRAPP a T VARTANIAN, 2010. Hyaluronan blocks oligodendrocyte progenitor maturation and remyelination through TLR2. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. 22.6., roč. 107, č. 25, s. 11555–60. ISSN 1091-6490. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.1006496107
- STEWART, Cameron R, Lynda M STUART, Kim WILKINSON, Janine M VAN GILS, Jiusheng DENG, Annett HALLE, Katey J RAYNER, Laurent BOYER, Ruiqin ZHONG, William A FRAZIER, Adam LACY-HULBERT, Joseph El KHOURY, Douglas T GOLENBOCK a Kathryn J MOORE, 2010. CD36 ligands promote sterile inflammation through assembly of a Toll-like receptor 4 and 6 heterodimer. *Nature Immunology* [online]. 27.2., roč. 11, č. 2, s. 155–161. ISSN 1529-2908. Dostupné z: doi:10.1038/ni.1836
- TANAKA, Tatsuhide, Kentaro OH-HASHI, Hironobu SHITARA, Yoko HIRATA a Kazutoshi KIUCHI, 2008. NF-kappaB independent signaling pathway is responsible for LPS-induced GDNF gene expression in primary rat glial cultures. *Neuroscience letters* [online]. 6.2., roč. 431, č. 3, s. 262–7. ISSN 0304-3940. Dostupné z: doi:10.1016/j.neulet.2007.11.051
- TANG, S.-C., T. V. ARUMUGAM, X. XU, A. CHENG, M. R. MUGHAL, D. G. JO, J. D. LATHIA, D. A. SILER, S. CHIGURUPATI, X. OUYANG, T. MAGNUS, S. CAMANDOLA a M. P. MATTSON, 2007a. Pivotal role for neuronal Toll-like receptors in ischemic brain injury and functional deficits. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 21.8., roč. 104, č. 34, s. 13798–13803. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.0702553104

- TANG, Sung-Chun, Thiruma V ARUMUGAM, Xiangru XU, Aiwu CHENG, Mohamed R MUGHAL, Dong Gyu JO, Justin D LATHIA, Dominic A SILER, Srinivasulu CHIGURUPATI, Xin OUYANG, Tim MAGNUS, Simonetta CAMANDOLA a Mark P MATTSON, 2007b. Pivotal role for neuronal Toll-like receptors in ischemic brain injury and functional deficits. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. 21.8., roč. 104, č. 34, s. 13798–803. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.0702553104
- TANGA, Flobert Y, Nancy NUTILE-MCMENEMY a Joyce A DELEO, 2005. The CNS role of Toll-like receptor 4 in innate neuroimmunity and painful neuropathy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. B.m.: National Academy of Sciences, 19.4., roč. 102, č. 16, s. 5856–5861. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.0501634102
- TAYLOR, Deanna L, Grisha PIRIANOV, Samantha HOLLAND, Colm J MCGINNITY, Adele L NORMAN, Camilla REALI, Lara T DIEMEL, Djordje GVERIC, Davy YEUNG a Huseyin MEHMET, 2010. Attenuation of proliferation in oligodendrocyte precursor cells by activated microglia. *Journal of neuroscience research* [online]. 6., roč. 88, č. 8, s. 1632–44. ISSN 1097-4547. Dostupné z: doi:10.1002/jnr.22335
- TERMEER, Christian, Frauke BENEDIX, Jonathon SLEEMAN, Christina FIEBER, Ursula VOITH, Thomas AHRENS, Kensuke MIYAKE, Marina FREUDENBERG, Christopher GALANOS a Jan Christoph SIMON, 2002. Oligosaccharides of Hyaluronan Activate Dendritic Cells via Toll-like Receptor 4. *The Journal of Experimental Medicine* [online]. 7.1., roč. 195, č. 1, s. 99–111. ISSN 0022-1007. Dostupné z: doi:10.1084/jem.20001858
- VABULAS, Ramunas M., Parviz AHMAD-NEJAD, Sanghamitra GHOSE, Carsten J. KIRSCHNING, Rolf D. ISSELS a Hermann WAGNER, 2002. HSP70 as endogenous stimulus of the toll/interleukin-1 receptor signal pathway. *Journal of Biological Chemistry* [online]. roč. 277, č. 17, s. 15107–15112. ISSN 00219258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M111204200
- VARADARADJALOU, S, F FEGER, N THIEBLEMONT, N B HAMOUDA, J M PLEAU, M DY a M AROCK, 2003. Toll-like receptor 2 (TLR2) and TLR4 differentially activate human mast cells. *Eur J Immunol* [online]. roč. 33, č. 4, s. 899–906. ISSN 0014-2980. Dostupné z: doi:10.1002/eji.200323830
- VIGLIANTI, Gregory A, Christina M LAU, Timothy M HANLEY, Benjamin A MIKO, Mark J SHLOMCHIK a Ann MARSHAK-ROTHSTEIN, 2003. Activation of Autoreactive B Cells by CpG dsDNA. *Immunity* [online]. 12., roč. 19, č. 6, s. 837–847. ISSN 10747613. Dostupné z: doi:10.1016/S1074-7613(03)00323-6
- VOLLMER, Jörg, Sibylle TLUK, Claudia SCHMITZ, Svetlana HAMM, Marion JURK, Alexandra FORSBACH, Shizuo AKIRA, Kindra M KELLY, Westley H REEVES, Stefan BAUER a Arthur M KRIEG, 2005. Immune stimulation mediated by autoantigen binding sites within small nuclear RNAs involves Toll-like receptors 7 and 8. *The Journal of Experimental Medicine* [online]. 5.12., roč. 202, č. 11, s. 1575–1585. ISSN 0022-1007. Dostupné z: doi:10.1084/jem.20051696
- WADACHI, R. a K.M. M HARGREAVES, 2006. Trigeminal Nociceptors Express TLR-4 and CD14: a Mechanism for Pain due to Infection. *Journal of dental research* [online]. roč. 85, č. 1, s. 49–53. ISSN 0022-0345. Dostupné z: doi:10.1177/154405910608500108

- WANG, A. C., Q. B. SU, F. X. WU, X. L. ZHANG a P. S. LIU, 2009. Role of TLR4 for paclitaxel chemotherapy in human epithelial ovarian cancer cells. *European journal of clinical investigation* [online]. 2., roč. 39, č. 2, s. 157–64. ISSN 1365-2362. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2362.2008.02070.x
- WANG, X, Y ZHANG, Y PENG, M R HUTCHINSON, K C RICE, H YIN a L R WATKINS, 2016. Pharmacological characterization of the opioid inactive isomers (+)-naltrexone and (+)-naloxone as antagonists of toll-like receptor 4. *British journal of pharmacology* [online]. 3., roč. 173, č. 5, s. 856–69. ISSN 1476-5381. Dostupné z: doi:10.1111/bph.13394
- WILLIS, WILLIAM D., 1988. Dorsal Horn Neurophysiology of Pain [Review]. *Annals of the New York Academy of Sciences* [online]. 6., roč. 531, č. 1 Neurological, s. 76–89. ISSN 0077-8923. Dostupné z: doi:10.1111/j.1749-6632.1988.tb31815.x
- WU, Fei-xiang, 2010. Intrathecal siRNA against Toll-like receptor 4 reduces nociception in a rat model of neuropathic pain. *International Journal of Medical Sciences* [online]. roč. 7, č. 5, s. 251. ISSN 1449-1907. Dostupné z: doi:10.7150/ijms.7.251
- YAMAMOTO, Masahiro, Shintaro SATO a Hiroaki HEMMI, 2003. Role of Adaptor TRIF in the MyD88-Independent Toll-Like Receptor Signaling Pathway. *Science* [online]. roč. 301, č. August, s. 640–643. ISSN 10959203. Dostupné z: doi:10.1126/science.1087262
- YAMAMOTO, Masahiro, Shintaro SATO, Kiyotoshi MORI, Katsuaki HOSHINO, Osamu TAKEUCHI, Kiyoshi TAKEDA a Shizuo AKIRA, 2002. Cutting Edge: A Novel Toll/IL-1 Receptor Domain-Containing Adapter That Preferentially Activates the IFN- Promoter in the Toll-Like Receptor Signaling. *The Journal of Immunology* [online]. 15.12., roč. 169, č. 12, s. 6668–6672. ISSN 0022-1767. Dostupné z: doi:10.4049/jimmunol.169.12.6668
- YAO, Song-yi, Mohammed SOUTTO a Subramaniam SRIRAM, 2008a. Bacterial cell wall products increases stabilization of HIF-1 alpha in an oligodendrocyte cell line preconditioned by cobalt chloride or desferrioxamine. *Journal of Neuroimmunology* [online]. 8., roč. 200, č. 1-2, s. 17–26. ISSN 01655728. Dostupné z: doi:10.1016/j.jneuroim.2008.05.018
- YAO, Song-yi, Mohammed SOUTTO a Subramaniam SRIRAM, 2008b. Bacterial cell wall products increases stabilization of HIF-1 alpha in an oligodendrocyte cell line preconditioned by cobalt chloride or desferrioxamine. *Journal of neuroimmunology* [online]. 30.8., roč. 200, č. 1-2, s. 17–26. ISSN 0165-5728. Dostupné z: doi:10.1016/j.jneuroim.2008.05.018
- YAROVINSKY, Felix, 2005. TLR11 Activation of Dendritic Cells by a Protozoan Profilin-Like Protein. *Science* [online]. 10.6., roč. 308, č. 5728, s. 1626–1629. ISSN 0036-8075. Dostupné z: doi:10.1126/science.1109893
- YOON, Hee Jung, Sae-Bom JEON, In-Hoo KIM a Eun Jung PARK, 2008. Regulation of TLR2 expression by prostaglandins in brain glia. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. 15.6., roč. 180, č. 12, s. 8400–9. ISSN 0022-1767.
- YOSHIMOTO, Tomohiro a Kenji NAKANISHI, 2006. Roles of IL-18 in basophils and mast cells. *Allergol Int* [online]. B.m.: Elsevier Masson SAS, roč. 55, č. 2, s. 105–13. ISSN 1323-8930. Dostupné z: doi:10.2332/allergolint.55.105

- YU, Man, Haichao WANG, Aihao DING, Douglas T. GOLENBOCK, Eicke LATZ, Christopher J. CZURA, Matthew J. FENTON, Kevin J. TRACEY a Huan YANG, 2006. HMGB1 signals through toll-like receptor (TLR) 4 and TLR2. *Shock (Augusta, Ga.)* [online]. 8., roč. 26, č. 2, s. 174–9. ISSN 1073-2322. Dostupné z: doi:10.1097/01.shk.0000225404.51320.82
- ZHAO, Yang, Yan XIN, Jie GAO, Ru-Yang TENG a Hai-Chen CHU, 2015. Analgesic effect of TAK-242 on neuropathic pain in rats. *International journal of clinical and experimental medicine* [online]. roč. 8, č. 7, s. 11202–7. ISSN 1940-5901. Dostupné z: doi:10.1248/bpb.b15-00360